

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année scolaire 1928-1929 — N° 156

Travail du Laboratoire de Chimie-Physique du Professeur A. Boutaric
(Faculté des Sciences de l'Université de Dijon)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
RÉFRACTOMÉTRIE
DES
LACTO-SÉRUMS

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 16 février 1929

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Albert LATAIX

Vétérinaire Capitaine

né le 12 janvier 1885, à SAINT-MARTIN-DE-RÉ (Charente-Inférieure)



« LE LAIT »
2, QUAI CHAUVÉAU, 2
LYON

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
RÉFRACTOMÉTRIE DES LACTO-SÉRUMS

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année scolaire 1928-1929 — N° 156

Travail du Laboratoire de Chimie-Physique du Professeur A. Boutaric
(Faculté des Sciences de l'Université de Dijon)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
RÉFRACTOMÉTRIE
DES
LACTO-SÉRUMS

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 16 février 1929

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Albert LATAIX

Vétérinaire Capitaine

né le 12 janvier 1885, à SAINT-MARTIN-DE-RÉ (Charente-Inférieure)



« LE LAIT »
2, QUAI CHAUVÉAU, 2
LYON

Personnel enseignant de l'Ecole Vétérinaire de Lyon

Directeur	M. Ch. PORCHER.
Directeur honoraire	M. F.-X. LESBRE.
Professeur honoraire	M. Alfred FAURE, ancien directeur

PROFESSEURS

Physique et chimie médicale, Pharmacie, Toxicologie ...	MM. PORCHER.
Botanique médicale et fourragère, Zoologie médicale, Parasitologie et Maladies parasitaires	MORATEL.
Anatomie descriptive des animaux domestiques, Tératologie. Extérieur	N...
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des denrées alimentaires et des établissements classés soumis au contrôle vétérinaire	BALL.
Pathologie médicale des Equidés et des Carnassiers, Clinique, Sémiologie et Propédeutique. Jurisprudence vétérinaire	CADEAC.
Pathologie chirurgicale des Equidés et des Carnassiers. Clinique, Anatomie chirurgicale. Médecine opératoire	DOUVILLE.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire. Clinique. Médecine opératoire. Obstétrique	CUNY.
Pathologie générale et Microbiologie. Maladies microbiennes et police sanitaire. Clinique	BASSET.
Hygiène et Agronomie, Zootechnie et Economie rurale	LETARD.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. AUGER.	MM. TAPERNOUX.
LOMBARD	TAGAND.



Examineurs de la Thèse

Président: M. le Docteur Albert MOREL, Professeur à la Faculté de Médecine, chevalier de la Légion d'honneur.

Assesseurs: M. le Professeur Ch. PORCHER, Directeur de l'Ecole vétérinaire, Officier de la Légion d'honneur.

M. L. JUNG, Professeur à l'Ecole vétérinaire.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

MEIS ET AMICIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE DOCTEUR A. MOREL

Professeur de Chimie organique et de Toxicologie
à la Faculté de Médecine de Lyon
Chevalier de la Légion d'Honneur

*Avec nos plus vifs remerciements
pour l'honneur qu'il nous a fait en
acceptant de présider notre thèse.*

A NOTRE MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CH. PORCHER

Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Officier de la Légion d'Honneur

*En témoignage de notre reconnais-
sance pour les conseils qu'ils nous a
prodigués et pour le bienveillant
intérêt qu'il nous porte.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JUNG

Professeur de Physiologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

*Avec l'expression de notre vive
gratitude.*

AVANT-PROPOS

La réfractométrie des lacto-sérums a fait l'objet de nombreux travaux, particulièrement en Allemagne et en Suisse où, grâce au réfractomètre à immersion de ZEISS, la méthode est passée dans la pratique courante des laboratoires de contrôle du lait.

Il nous a semblé que ce procédé de recherche des mouillages — qui n'a pas acquis droit de cité dans nos laboratoires — méritait mieux que l'oubli dans lequel il paraît être tombé, en France, depuis les travaux de VILLIERS et BERTAULT et de leurs élèves.

Nous devons l'idée de ce travail à M. le Professeur Ch. PORCHER, Directeur de l'Ecole nationale vétérinaire de Lyon. A ce Maître dont les travaux en matière de lait sont unanimement appréciés, nous tenons à exprimer ici notre respectueuse et profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il a porté à nos recherches, pour les encouragements qu'il nous a prodigués, ainsi que pour la rare bibliographie en langue allemande qu'il a bien voulu nous confier. Nous le prions de vouloir nous pardonner si nous n'avons atteint qu'imparfaitement le but qu'il nous avait assigné.

Nos remerciements vont aussi à M. le Professeur BOUTARIC, de la Faculté des Sciences de Dijon, qui a mis si aimablement et si spontanément son laboratoire à notre disposition pour nos recherches et ne nous a ménagé ni ses précieux conseils, ni ses encouragements amicaux. Nous l'assurons de notre affectueuse et bien sincère reconnaissance.

M. L. PANCHAUD, Docteur ès Sciences, du Laboratoire Cantonal de Genève, nous a aimablement procuré une importante série de travaux sur la réfractométrie ; nous lui exprimons notre vive gratitude.

Nous ne saurions oublier, non plus, avec quelle amabilité, M. GRANVIGNE, Ingénieur Agronome, Directeur de la Station agronomique régionale de Dijon, nous a ouvert la porte de son laboratoire, ni les conseils pratiques qu'il a bien voulu nous prodiguer ; nous le prions de trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.

INTRODUCTION

Sans doute, il est trop tard pour parler encor d'elle

.....

Stances à la Malibran

A. DE MUSSET.

Le vers de Musset nous revient à la mémoire lorsque, après tant d'auteurs, et avec le recul de nombreuses années, nous entreprenons une étude de la réfractométrie des sérums de lait.

En fait, depuis la tourmente mondiale de 1914-1918, la question semble avoir été perdue de vue — en France du moins — car c'est à peine si, aujourd'hui, dans notre pays, les ouvrages qui traitent systématiquement du lait lui consacrent une rubrique bien restreinte et ne lui accordent plus, pour ainsi dire, qu'une valeur purement historique.

Et cependant, il nous a semblé qu'il y aurait intérêt à démêler cette question quelque peu touffue — tant par la nombreuse bibliographie qu'elle comporte, que par les divergences d'appréciation des auteurs qui s'en sont occupés — et à tenter de jeter un peu de lumière sur le sujet dont nous nous sommes proposé l'étude.

Dans quel but, tout d'abord, utilise-t-on la réfractométrie des lacto-sérums ? C'est pour rechercher, par une méthode physique d'exécution rapide, l'addition d'eau au lait livré à la consommation publique.

La falsification du lait est pratiquée de longue date et c'est surtout pour la dépister que le Conseil Municipal de Paris, en 1881, créa le Laboratoire Municipal. Depuis cette création que suivit bientôt la publication des minima officiels, la falsification du lait est entrée, si l'on peut dire, dans une voie savante. Les fraudeurs, pour exercer leur coupable industrie sans redouter de se faire prendre, vont tantôt se servir de l'illusoire « mouillage au ventre », en employant une alimentation aqueuse à grand rendement qu'ils croient conduire à de la polylactie ; tantôt, en s'appuyant sur des bases chimiques précises, livrer à la consommation publiques des laits falsifiés, mais échappant pour-

tant aux règlements de police. Le mouillage du lait deviendra la fraude la plus habituellement pratiquée.

Le service de répression des fraudes essayera dès lors d'employer des méthodes d'investigations rapides. Pour arriver à ce but, il s'adressera aux méthodes physiques qui, si elles ne conduisent pas à des résultats d'une précision rigoureuse, ont du moins l'avantage d'être simples dans leur emploi et faciles dans leur exécution.

Le mouillage, en particulier, retiendra particulièrement l'attention des analystes « c'est, dit LÉZÉ, la fraude la plus fréquente, la plus facile à pratiquer, une des plus difficiles à découvrir, une de celle qui fait hésiter le chimiste dans le jugement qu'on lui demande quelquefois de rendre d'après l'analyse qu'il a faite ».

Sans contredit, le mouillage est plus condamnable que les adultérations par écrémage ou par addition de lait écrémé.

La pratique du mouillage agit en diluant les différents éléments constitutifs du lait, elle diminue donc la totalité des substances nutritives contenues dans cette sécrétion, sans compter que l'eau ajoutée au lait peut être contaminée et dangereuse pour la santé publique.

Le législateur l'a si bien compris, que dans le Décret du 25 mars 1924, portant règlement d'Administration publique pour l'application de la Loi du 1^{er} août 1905, sur la répression des fraudes, en ce qui concerne le lait et les produits de laiterie, il s'exprime ainsi :

... Art. 4. — *Est considérée comme une falsification aux termes de l'article 3 de la loi du 1^{er} août 1905 :*

L'addition, en quelque proportion que ce soit, d'eau potable au lait ;

Est considérée comme une falsification nuisible à la santé aux termes du paragraphe 6 de l'article 3 de la loi du 1^{er} août 1905 :

L'addition au lait, en quelque proportion que ce soit, d'eau non potable...

Pour rechercher le mouillage du lait, on considérerait primitivement seulement la teneur en extrait sec. Mais le chiffre du résidu sec n'étant pas constant puisque la matière grasse du lait est sujette à de grandes variations, on se rabatit alors sur le résidu sec maigre, lequel servit de base pour le calcul de la quantité d'eau ajoutée.

Depuis longtemps déjà, on employait, pour la recherche du mouillage, le petit lait ou « sérum ». *On avait eu l'intuition, en effet, que les pro-*

priétés physico-chimiques de cette liqueur étaient sujettes à moins de variations que celles du lait entier.

Dès 1857, BOUCHARDAT & QUEVENNE en recommandent l'emploi.

En 1879, DIETZSCH avait remarqué que la densité du sérum obtenu par la coagulation spontanée des laits normaux oscillait dans d'étroites limites — entre 1.027 et 1.029 — et déjà cet auteur proposait de considérer comme mouillé tout lait dont le sérum spontané accusait une densité inférieure à 1.026.

Mais le sérum spontané est long à obtenir et sa composition est très variable du fait que les fermentations qui provoquent la coagulation du lait ne sont ni toujours identiques à elles-mêmes, ni toujours comparables entre elles.

Aussi, en 1884, DIETZSCH¹ proposa-t-il l'emploi de l'acide acétique comme coagulant. Il écrivait : « Si on coagule le lait au moyen de quelques gouttes d'acide acétique, si on le cuit, puis le débarrasse par filtration de la caséine et de l'albumine, le sérum obtenu, presque aussi limpide que l'eau, mon're un poids spécifique variant dans de faibles limites. »

La densité du sérum, déterminée avec soin, fournit des indications permettant à un praticien exercé de juger avec certitude de la pureté d'un lait. Malheureusement, cette détermination est une opération longue et délicate. Elle implique une perte de temps considérable et nécessite une quantité de sérum relativement importante. Ce procédé n'est donc pas applicable lorsqu'il s'agit d'essais rapides, faits en série, pour le contrôle des laits.

C'est pour cette raison que l'emploi de la méthode gravimétrique fut bientôt abandonné et remplacé par la détermination de l'indice de réfraction du lacto-sérum.

Nous ferons, au cours de cette étude, un exposé des questions suivantes :

1^o Historique de la réfractométrie des sérums du lait.

2^o Cause des différences entre les indices de réfraction fournis, pour un même lait, par les diverses méthodes de préparation des lacto-sérums.

3^o Part revenant, dans l'indice de réfraction, à chacun des composants du lacto-sérum.

¹ DIETZSCH, Chem. Ztg. VIII. 323, 1884.

4° Etablissement d'une classification des lacto-sérums. Etude critique de leur valeur pratique. Choix d'une méthode de production.

5° Utilisation de la réfractométrie pour la recherche rapide du mouillage.

Puisse notre travail éclairer un peu la question de la réfractométrie des sérums de lait ; et si nous avons atteint ce but, ce sera notre excuse de l'avoir entrepris.

CHAPITRE PREMIER

Historique de la réfractométrie des lacto-sérums

L'idée d'examiner le pouvoir réfringent du lait n'est pas nouvelle. G. VALENTIN¹ l'a réalisée en 1879. C'est lui qui, le premier, a introduit ce procédé d'examen optique dans le groupe des méthodes d'examen physique du lait.

Il déterminait l'indice de réfraction du lait, *sans addition de réactifs*, au moyen du réfractomètre de Abbe et trouva pour le lait de vache des indices compris entre 1,3500 et 1,3502 à la température de 16° C.

Cette méthode d'examen direct n'offre qu'un intérêt historique du fait que son auteur opérait sur le lait entier.

A. JÖRGENSEN², recourant au *sérum d'emprésurage* observa, pour des laits de mélange, des indices compris entre 1,3440 et 1,3455 et pour des laits individuels entre 1,3433 et 1,3465.

Il tint la valeur de la réfraction pour utilisable quand le dosage de la graisse et la détermination du poids spécifique ne permettent pas de se prononcer.

VILLIERS et BERTAULT³ ont indiqué les premiers l'utilité de la détermination de la réfraction du sérum acétique obtenu en ajoutant au lait un demi-volume d'*acide acétique* dilué à 1 % et portant le mélange un instant à l'ébullition dans un ballon muni d'un réfrigérant ascen. On filtre après refroidissement.

L'indice, déterminé avec l'oléo-réfractomètre Amagat et Jean, était compris entre 39,5 et 42,5 (N_d : 1,3426 et 1,3433).

¹ G. VALENTIN : *Ein Beitrag zur Kenntnis der Brechungsverhältnisse der Tiergewebe*. Arch. ges. Physiol. XIX. 78, 105 ; le même, p. 102, 1879.

² Alfred JÖRGENSEN : *Über die Verfälschung der Milch und die Nachweisung derselben mittels des Refraktometers*. Landw. Jahrb. XI. 699 708 1882.

³ VILLIERS & BERTAULT : *Recherches sur le lait. Détermination du mouillage*. Bull. soc. chim. XIX, p. 315, 1898.

Ces auteurs concluent que tout lait mouillé fournit un chiffre inférieur à 39,5 (1.3426) et en effectuant leurs essais sur des laits dilués successivement à 5, 10 et 50 %, ils trouvent entre le lacto-sérum fourni par le lait pur et celui fourni par la dernière dilution, un écart correspondant à 20 divisions de l'oléo-réfractomètre (N_d : 0,0040). Ils ont dressé un tableau montrant que 4 divisions de l'oléo-réfractomètre (N_d : 0,0008) correspondent à une addition d'eau de 10 %.

R. BRAUN¹ utilise le *chlorure de calcium* pour l'obtention du lacto-sérum.

Il verse 5 cm³ de lait dans un petit tube de Wollny avec 5 gouttes d'une solution de chlorure de calcium à 4 %. Le tube est solidement bouché et le bouchon fixé. Le tube est plongé pendant 10 minutes dans un bain d'eau bouillante et porté ensuite dans l'eau froide. Il filtre sur ouate et prélève une goutte pour l'examen qui est fait au réfractomètre de Wollny à la température de 17°5.

BRAUN se sert de son sérum pour le dosage du lactose dans le lait. Il observe que la richesse en lactose du lait de vache varie dans des limites restreintes (4,13 à 4,68 %). Il reconnaît que sa méthode n'est applicable qu'au lait de vache, les autres laits, trop riches en albumines, donnant des sérums troubles.

F. UTZ² abandonne les échantillons de lait à l'étuve à 37°5. La caséine est précipitée par l'acide lactique formé. Il filtre et sur le filtrat opère l'essai réfractométrique.

Alors que le sérum de lait entier marque 1,3431 à 1,3442 à 15° C. et que l'eau de conduite utilisée indiquait 1,3328 à la même température, les indices descendaient après addition de 5 % d'eau à 1,3425-1,3430, avec 20 % d'eau à 1,3411-1,3412; avec 40 % d'eau à 1,3390-1,3393; avec 50 % d'eau à 1,3384-1,3388. L'auteur en conclut que la détermination de l'indice de réfraction peut servir à prouver le mouillage du lait. Il montre l'avantage du procédé réfractométrique sur le procédé gravimétrique quant à la facilité de l'exécution, pour les analyses en série, en particulier. Ce premier procédé n'exige qu'un matériel restreint.

¹ R. BRAUN : *Die Bestimmung des Milchzuckers mit dem Wollnyschen Milchrefractometer in Vergleich zu den analytischen und polymetrischen Bestimmungsmethoden*. Milch. Ztg. XXX, 1901.

² Fr. UTZ : *Beiträge zur Milchuntersuchung mittels Refractometer*, Oesterr. Chem. Ztg. XXII, 1901.

A. LAM¹ utilise avec succès le réfractomètre de Zeiss-Wollny pour la détermination de la réfraction du sérum du lait, du lait maigre et du babeurre. Il résulte de ses expériences que la réfraction du *sérum spontané* ne subit que de faibles variations dans l'espace des trois premiers jours.

H. MATTHES et F. MULLER², opèrent sur le *sérum spontané* avec le réfractomètre à immersion de Zeiss. Dans ces conditions, pour des laits de mélange de la région d'Iéna, les résultats varient de 40,6 à 44 divisions de l'échelle de l'appareil ($N_d = 1,3430 - 1,3443$).

Ils admettent que tout lait donnant une valeur inférieure à 40 ($N_d = 1,3427$) doit être considéré comme mouillé. Pour des mouillages de 10 %, ils observent une diminution de 2,5 à 2,6 divisions ($N_d = 0,00098$ à 0,00102). Sur 48 échantillons de lait, ils observent que le poids spécifique du sérum spontané à 15° C. varie parallèlement à la réfraction.

RIPPER³ emploie un *sérum acétique* préparé selon RADELESCU. A 100 cm³ de lait, il ajoute 2 cm³ d'une solution d'acide acétique à 20 %. Il chauffe 10 minutes au bain-marie pour atteindre 65° C. environ, refroidit à 15°, filtre et examine au réfractomètre quelques gouttes du filtrat.

On peut opérer également sur 10 cm³ de lait, avec 0,2 cm³ de la solution acétique en chauffant 5 minutes. Il est essentiel de ne pas dépasser la température de 72° C., sinon l'albumine précipiterait. Par ailleurs RIPPER conseille d'opérer comme précédemment, mais de chauffer à 80° C. pendant 1 à 2 minutes, c'est-à-dire jusqu'à ce que le sérum soit complètement séparé de la caséine. *Nous verrons au cours de notre étude sur les sérums acétiques qu'il n'y a rien d'étonnant, avec de pareilles méthodes, à ce que les résultats de Ripper aient été mis en doute par de nombreux auteurs.*

D'après RIPPER, l'indice de réfraction du sérum acétique de *laits normaux* oscille seulement entre 1,3430 et 1,3442. L'indice du sérum du lait fourni par des vaches *tuberculeuses* est compris entre 1,3410 et 1,3427.

¹ A. LAM : Chem. Ze'ig. XXVII. 280, 1903.

² H. MATTHES & F. MULLER : *Über die Untersuchung der Milch-Serums mit dem Zeiss-schen Eintauch-Refraktometer*, Zeitschrift für öffentliche Chemie. X. 173, 1903.

³ RIPPER : *Eine rasche Methode zur Erkennung der Milch von kranken Tieren*. Milch Zeitg. XXXII, 1903.

Dans 15 cas de *fièvre*, l'auteur a trouvé de 1,3415 à 1,3425.

Trois cas de *stomatite aphteuse* ont permis de constater les indices suivants : 1,3418-1,3420-1,3420.

Dans les 8 premiers jours qui suivent la *parturition*, RIPPER a observé des indices variant de 1,3477 à 1,3480, fait qui n'a rien d'étonnant, étant donnée la quantité considérable d'albumines que renferme le lait colostré ; *ces albumines augmentent lourdement l'indice de réfraction du sérum acétique*.

L'auteur affirme que la coagulation spontanée conduit aux mêmes résultats. Si l'indice de réfraction est inférieur à l'indice normal, il indique le mouillage ou une maladie de la vache ; en ce cas, l'analyse chimique est nécessaire pour permettre de trancher la question.

F. ERTEL¹ reprend les expériences de RIPPER au Laboratoire de la Laiterie Viennoise et il conclut que la méthode de RIPPER apparaît généralement comme inutilisable dans la pratique. ERTEL a porté ses observations sur 31 vaches, dont 16 étaient malades, et il formule les conclusions suivantes :

1° En général, l'indice de réfraction des lacto-sérums acétiques des vaches saines n'accuse que des variations peu étendues ; il sort cependant des limites indiquées par RIPPER (1,3430 à 1,3442), pour prendre des valeurs très souvent supérieures, plus rarement inférieures.

2° Le lait de vaches cliniquement malades possède très souvent des indices de réfraction élevés, dépassant 1,3440.

3° Les indices de réfraction des diverses traites d'un même jour et d'une même vache montrent souvent des variations étendues, et apparemment plus étendues chez les vaches malades que chez les vaches saines.

4° L'opinion de RIPPER que le lait des vaches tuberculeuses se reconnaît sûrement à l'indice de réfraction inférieur du sérum ne se vérifie pas ici. Cette méthode est actuellement inutilisable dans ce but.

5° En outre, la méthode est assez délicate. Son exactitude dépend moins de la température et de la préparation du sérum que de l'habileté de l'expérimentateur. Dans ces conditions, si elle était exacte, elle ne conviendrait que pour les laboratoires et non pour les praticiens agricoles.

¹ F. ERTEL : *Beobachtungen über die Rippersche Methode zur Erkennung der Milch von kranken Kühen*. Oester. Molk. Zeitg. XI, 1, 1904.

MAYRHOFER¹ fait observer que ERTEL, qui travaillait avec un réfractomètre universel de ZEISS, fit examiner réfractométriquement, en même temps qu'il en déterminait les indices, 12 échantillons de lait, dans la laboratoire de RIPPER, à Vienne. De la confrontation des résultats il ressort que la concordance n'existe qu'une fois ; les autres donnent des résultats inférieurs.

Un lait provenant d'une vache atteinte de tuberculose pulmonaire qui donnait N_d : 1,3444 d'après l'examen de ERTEL, donnait N_d : 1,3429 d'après celui de RIPPER. Des 31 essais d'ERTEL, MAYRHOFER déclare que 9 seulement furent en faveur de la méthode de RIPPER et 22 contre cette méthode.

WITTMANN² mentionne dans une communication préliminaire que « dans 30 % des cas, les nombres limites indiqués par RIPPER sont surpassés vers le haut » et que le lait d'une vache qui notoirement était atteinte d'entérite tuberculeuse donna un indice de réfraction de 1,3441, lequel ne s'écartait pas de celui fourni par le lait d'un animal en bonne santé.

LEACH et LYTHGOE³ opèrent sur des lacto-sérums obtenus en faisant agir sur 100 cm³ de lait à 20° C., 2 cm³ d'une solution d'acide acétique à 25 % ($d = 1,035$). Le récipient contenant le lait acidulé est couvert avec un verre de montre et chauffé dans un bain-marie à 70° C. pendant 20 minutes ; au bout de ce temps, on refroidit dans l'eau glacée pendant 10 minutes, le sérum est filtré et examiné au réfractomètre à immersion de ZEISS ou au réfractomètre de ABBE.

Dans le cas d'un lait pur, le sérum ne donne jamais, au réfractomètre de ZEISS, moins de 39 degrés (N_d : 1,3424) à 20° C. Un sérum de lait donnant 42,4 degrés (N_d : 1,3436) mélangé avec 10 % d'eau donne 39,75 degrés (N_d : 1,3426) et avec 20 % d'eau, il donne 36,9 degrés (N_d : 1,3416).

Pour LEACH et LYTHGOE, la détermination de la réfraction du sérum

¹ MAYRHOFER : *Beiträge zur Ripperschen Methode zur Erkennung der Milch kranker Tiere*. Oester. Molker. Zeitung. Wien. I, 1904.

² WITTMANN : *Untersuchungen über die Refraktion des Milchserums*. Vorläufige Mitteilung. Oester. Molker. Zeitg. 15 März 1904.

³ A.-E. LEACH & H.-C. LYTHGOE : *Journ. of Amer. Chemical. Society*. XXVI. 1195, 1904.

est un moyen général de déceler le mouillage du lait. Tout lait présentant un indice inférieur à 39 degrés (N_d : 1,3424) devrait être considéré comme mouillé. Pour des laits de provenance connue, ils trouvèrent des valeurs comprises entre 40 et 44,5 (N_d : 1,3427-1,3444).

BASSET¹, vérifiant les recherches de VILLIERS et BERTAULT, reconnaît que leur méthode est susceptible de déceler le mouillage des laits, qu'elle permet de reconnaître une addition d'eau de 10 % à des laits de composition moyenne et une addition d'eau de 5 % à des laits de richesse minima. Pour les laits de la région bordelaise sur lesquels il opère, il propose de substituer au chiffre limite établi par VILLIERS et BERTAULT un chiffre plus faible : 38 (N_d : 1,3422) au lieu de 39,5 (N_d : 1,3426).

SCHNORF² dans sa thèse de Doctorat vétérinaire de Zurich entreprend une série de travaux relatifs à la réfractométrie, à la cryoscopie et à la conductibilité électrique dans l'analyse du lait.

De ses résultats, il ressort que les hypothèses de RIPPER sont fausses, dans la plupart des cas. En ce qui concerne la réfractoscopie, il ajoute que l'acidification et la coagulation spontanée ne se traduisent pas par une variation de l'indice de réfraction. La méthode réfractométrique est pour lui, comme la détermination du poids spécifique et celle du résidu sec, une méthode sommaire, avec une sensibilité particulière pour l'atome C ; c'est pourquoi employée seule, elle ne peut guère donner plus de résultats, alors qu'elle peut très bien compléter ces deux méthodes d'analyse.

HENSEVAL et MULLIE³ ont opéré sur un *sérum acétique* préparé selon RIPPER. Ils trouvent comme indices extrêmes 1,3429 et 1,3445. Les indices les plus fréquents étaient compris entre 1,3430 et 1,3442. Une addition d'eau de 10 % abaisse l'indice d'environ 0,00102. Un lait est mouillé lorsque son indice de réfraction est inférieur à 1,3425 à 15° C. et ils considèrent comme suspects les laits dont l'indice est compris entre 1,3425 et 1,3429. Ils concluent que la réfractométrie est

¹ BASSET : *Contribution à l'étude des méthodes physiques d'examen du lait*. Thèse de pharmacie. Bordeaux, 1905.

² Carl SCHNORF : *Physikalisch-chemische Untersuchungen physiologischer und pathologischer Kuhmilch*. Inaugural Dissertation. Zürich, 1904.

³ HENSEVAL & G. MULLIE : *La réfractométrie du lait*. Revue Générale du Lait. 529-538, Septembre 1905.

susceptible de rendre des services importants, puisqu'elle permet de reconnaître un mouillage de 10 à 15 % dans un grand nombre de cas et de 20 % dans tous les cas. Pas plus que la cryoscopie, la viscosimétrie et la mesure de la résistivité électrique, la détermination de l'indice de la réfraction ne peut dispenser de l'analyse chimique pour affirmer le mouillage.

Passant aux expériences de RIPPER sur les laits de *vaches malades*, ils observent que l'indice de ces laits n'est pas toujours anormalement bas ; *il l'est généralement pour les animaux dont la mamelle est fortement atteinte*. Dans tous les cas où l'indice de réfraction était abaissé, il ne pouvait y avoir aucun doute sur le lait : on reconnaissait à son aspect qu'il s'agissait d'un lait altéré.

Le lait des quartiers sains peut conserver un indice normal. *L'abaissement de l'indice provient de la faible teneur en lactose*. Les laits de vaches atteintes de tuberculose interne et qui réagissent à la tuberculine ont un indice de réfraction normal.

COTHEREAU¹ met en doute le chiffre limite indiqué par BASSET ($N_d = 1,3422$) et pense qu'on ne peut pas affirmer *a priori* qu'un lait fournissant un tel indice n'ait pas été mouillé.

Il a en effet trouvé des laits naturels dont le sérum déviait de $43^{\circ}7$ ($N_d : 1,3436$) et ces mêmes laits, après mouillage de 10 %, donnaient encore une déviation de 39° ($N_d : 1,3424$).

Un autre échantillon, dont la déviation primitive était $44^{\circ}7$ ($N_d : 1,3439$) marquait après mouillage à 10 % $40^{\circ}2$ ($N_d : 1,3427$). Ces déviations 39° et $40^{\circ}2$ étant supérieures à la limite 38, devraient donc faire classer comme produits naturels des laits où le mouillage est déjà notable. A l'encontre de BASSET, il pense que le lactose et le chlorure de sodium ne sont pas les seuls éléments du petit lait susceptibles d'agir sur l'indice de réfraction. Il y a lieu d'ajouter une proportion très sensible de phosphates et de citrates et de plus une dose notable de substances albuminoïdes qui apportent environ 2 à 3 degrés dans la déviation totale ($+ 0,0005$ à $+ 0,0007$).

¹ A. COTHEREAU : *Recherche du mouillage dans le lait par le réfractomètre*. Bull. Soc. Chim. Paris 3^e Série. XXXIII, 234-236, 1905.

DUCROS et IMBERT¹, opérant sur des laits du Puy-de-Dôme, confirment d'une façon générale, les constatations de VILLIERS et BERTHAULT.

En outre, ils se livrent à des recherches sur la détermination comparative du mouillage des laits par la cryoscopie et la réfractométrie². Au cours de ces recherches ils substituent au lacto-sérum, obtenu par le procédé de VILLIERS et BERTHAULT, un petit lait préparé à froid : à 20 cm³ de lait, ils ajoutent 5 cm³ d'une solution de métaphosphate de sodium à 60 gr. par litre et 5 cm³ d'une solution d'acide acétique (acide acétique cristallisable : 120 gr., eau distillée : 880 gr.). La filtration est rapide et le sérum très limpide.

Ces auteurs opèrent des mouillages avec des solutions isotoniques de lactose, de saccharose, de glycérine, de bicarbonate de sodium. Dans tous les mouillages à 10 % pratiqués avec ces solutions, le point de congélation reste fixe, tandis que l'indice de réfraction augmente dans le cas où l'on emploie les solutions de lactose et de saccharose ; il diminue, au contraire, avec les solutions de glycérine et de bicarbonate de sodium et dans ces cas, le mouillage peut alors être décelé par la méthode réfractométrique.

MANSFELD³ est partisan de l'emploi de l'acide acétique comme coagulant et après avoir conseillé de traiter 20 cm³ de lait par 4 cm³ d'une solution d'acide acétique à 20 % et chauffage pendant 10 minutes à 85°, il recommande l'utilisation de l'acide acétique à 25 %⁴. Pour chaque mouillage à 10 %, l'abaissement moyen de l'indice donné par le réfractomètre à immersion de Zeiss était de 2,65 divisions ($N_d = 0,00104$). Il retrouve donc sensiblement le même abaissement d'indice que HENSEVAL et MULLIE.

RIEVEL⁵ utilise le sérum spontané et le sérum acétique préparé selon RIPPER pour déterminer les limites de l'indice de réfraction des laits de mélange du commerce.

¹ P. DUCROS & H. IMBERT : *Sur les constantes physiques du lait*. Bull. Scienc. Pharmacol. VII. 65, 1905.

² Id. : *Détermination comparative du mouillage des laits par la cryoscopie et la réfractométrie*. Bull. Scienc. Pharmacol. Sept. 1905.

³ MANSFELD : *Die Unters. d. Nahr. u. Genussm.* 17, 1897.

⁴ MANSFELD : *Oester. Chem. Ztg.* VIII. 546, 1905.

⁵ RIEVEL : *Refraktometrische Untersuchungen von Milch und Fleisch*. Deutch. Tierärztl. Woch. N° 12, 1905.

L'indice oscille entre 1,3420 et 1,3438 pour le sérum spontané et entre 1,3427 et 1,3439 pour le sérum acétique ($t = 23^{\circ} \text{C}$). Comme il ne procède pas à l'analyse chimique de ses échantillons on ne peut affirmer que ses indices les plus bas ne correspondent pas à des laits mouillés.

Il reprend les expériences de RIPPER en ce qui concerne les indices des laits d'animaux atteints de tuberculose.

Pour les vaches cliniquement tuberculeuses, les indices fournis par le sérum spontané oscillent entre 1,3402 et 1,3428, et par le sérum acétique entre 1,3407 et 1,3440, en négligeant deux cas extrêmes, avec 1,3369 et 1,3502 pour le sérum spontané et 1,3511 pour le sérum acétique, où de l'aveu de l'auteur, « la sécrétion de la mamelle n'avait pas le droit de se dénommer lait. »

RIEVEL estime que l'indice de réfraction est sujet à de tels écarts qu'il est impossible de se baser sur lui pour déterminer si le lait provient d'animaux sains ou malades.

Il se range donc à l'avis de ERTEL, WITTMANN et SCHNORF qui nient toute utilité à la réfractométrie pour trancher cette question.

UTZ¹ ne conseille pas l'emploi des sérums acétiques, parce que l'acide acétique influe sur la réfraction. Il recommande l'emploi du *sérum spontané*. Plus tard, après avoir employé cependant un sérum acétique donnant la même réfraction que le sérum spontané, il est arrivé à cette constatation que pour ces deux sérums, un même mouillage donnait un abaissement d'indice moindre dans le cas du sérum acétique. Il établit que le sérum devait être filtré à complète clarification et que l'addition de substances conservatrices, telles que le borax et le bicarbonate de sodium augmente la réfraction, ainsi qu'il fallait s'y attendre.

Ayant employé en outre le *sérum d'emprésurage*, UTZ trouva que ce sérum avait un indice plus élevé de 1 degré ($N_d : + 0,0004$) que celui du sérum spontané.

Il recommande chaudement la réfractométrie comme un complément de valeur aux divers résultats analytiques employés et comme un *moyen avantageux de classement rapide des laits examinés en série*.

A. E. LEACH², utilisant le réfractomètre à immersion de ZEISS pour

¹ UTZ : Osterr. Chem. Ztg. IV 509 (1901). Milchw. Zentralbl. I, 209, 1905. Molk. Ztg. XVI, 109 et 123, 1906.

² A. E. LEACH : Rep. Food and Drug. Insp. Massachusett. XXXIX, 1906.

l'examen de *sérums acétiques* des laits de l'Etat de Massachusett trouve que la réfraction des sérums de laits de provenance connue oscille entre 39 et 44,4 divisions de l'échelle (N_d : 1,3424 et 1,3444). Il tient pour mouillé tout lait dont le lacto-sérum donne une réfraction inférieure à 39 (N_d : 1,3424).

Le procédé réfractométrique a donné de bons résultats dans la pratique du contrôle des laits et il a permis de reconnaître des mouillages dans des cas où le chiffre de l'extrait sec dégraissé ne fournit pas d'indications. Il n'y a du reste aucune relation entre l'extrait sec dégraissé et la réfraction ; un lait présentant un chiffre d'extrait sec dégraissé bas peut avoir une forte réfraction et *vice versa*.

ACKERMANN¹, du Laboratoire Cantonal de Genève, prépare un sérum sans albumine en faisant bouillir le lait avec une solution de *chlorure de calcium* ; il suffit de décantier pour procéder à l'examen réfractométrique. Pour éviter la perte d'eau due à l'évaporation, l'auteur emploie un dispositif analogue à celui imaginé par BRAUN, mais en remplaçant les petits tubes de WOLLNY par de grands tubes à essai portant un trait de jauge à la contenance de 30 cm³.

Se basant sur les résultats de plus de 2.800 analyses, ACKERMANN indique que, pour les laits normaux, non falsifiés, les indices du lacto-sérum sont compris entre 38,5 et 40,5 degrés du réfractomètre à immersion de ZEISS (N_d : 1,3422 et 1,3429).

L'influence du mouillage est très sensible :

Sur un lait donnant un indice de réfraction de	1,3424
un mouillage de 5 % abaisse l'indice à	1,3419
id. de 10 % id. id.	1,3415
id. de 20 % id. id.	1,3408

Le sérum chlorurocalcique d'ACKERMANN présente donc un progrès très sensible sur les lacto-sérums employés jusqu'alors, si bien que UTZ², qui vérifia expérimentalement les données d'ACKERMANN *proposa que la détermination de la réfraction par un procédé uniforme soit adoptée dans les prescriptions officielles*.

¹ Dr Edwin ACKERMANN : *Mitteilung über den refraktometrischen Nachweis des Wasserzusatzen zur Milch*. Zeitsch. für Unter. der Nahrungs und Genussmittel, XIII. 4. 186, 188 1907.

² UTZ : Allgem. Chem. Ztg., VII. 525, 1907.

BAIER et NEUMANN³ emploient l'*asaprol* pour préparer à froid leur lacto-sérum et en obtiennent de bons résultats pour la recherche du mouillage. La préparation de leur lacto-sérum est plus rapide que celle du sérum chlorurocalcique, mais le lait est dilué à 100 pour 100 par le réactif, ce qui rend la méthode à l'*asaprol* peu sensible.

C. MAI et S. ROTHENFUSSE², de la station laitière officielle de la Ville de Munich, font une intéressante étude sur la preuve du mouillage du lait par les procédés réfractométriques. Après avoir fait rapidement une critique des différents modes de préparation de lacto-sérums, les auteurs recommandent particulièrement l'utilisation de la méthode d'ACKERMANN pour l'obtention du sérum chlorurocalcique. Ils démontrent expérimentalement que *la réfraction du sérum est complètement indépendante de la teneur du lait en matière grasse et que, de même, la réfraction reste constante si l'on observe des variations dans le chiffre du résidu sec maigre.*

Le changement de nourriture n'a qu'une influence minime sur la réfraction.

Pour les laits normaux de leur région, ils trouvent que la réfraction du sérum chlorurocalcique non filtré est comprise, dans la presque unanimité des cas, entre les divisions 38 et 40 du réfractomètre à immersion de Zeiss, à la température de 17°5 C. (N_d : 1,3420 à 1,3427.)

MAI et ROTHENFUSSE estiment que l'expert doit connaître très exactement les variations auxquelles est soumise la réfraction du sérum du lait provenant de la région où il exerce et ils affirment que l'on peut établir des chiffres limites dans toutes les conditions.

BURR, BERBERICH et LAUTERWALD³ utilisent le *caillebotage spontané* du lait ou celui qui est obtenu par addition de 20 cm³ d'une solution d'*acide acétique* à 20 % à 100 cm³ de lait, chauffage à 40° C. et refroidissement subséquent à 10° minimum, préalablement à la filtration. Ils préconisent le *sérum acétique* qui présente les avantages suivants sur le sérum spontané : il est rapide, l'acide n'influence pas le poids spéci-

¹ E. BAIER et P. NEUMANN : *Die Refraktometrische Untersuchung von Milchsahe in ihrer Verwendbarkeit in der Nahrungsmittelkontrolle*. Ztschr. f. Unt. d. Nahrungs und Genussmittel, XIII, 369, 1907.

² C. MAI et ROTHENFUSSE : *Über den Nachweis von Wasserrzusatz zur Milch. auf refraktometrischem Wege*. Zeitsch. f. Unt. Nahrungs. u. Genussm, XVI, 1-2. 7, 19, 1908.

³ A. BURR, F.-M. BERBERICH et LAUTERWALD : *Untersuchungen über Milchserum-Molkerei*. Ztg, XXII, 15-16, 1908.

fique du sérum, il ne se produit aucune fermentation et *toute l'albumine reste dans le sérum.*

H. C. LYTHGOE¹ propose, pour l'examen réfractométrique du lait, un sérum obtenu à froid au moyen d'une solution de *sulfate de cuivre* et utilise ce sérum pour la détermination du mouillage des laits. La méthode est peu sensible étant donnée la dilution de 25 % à laquelle est soumis le lait, ses seuls avantages sont la rapidité d'exécution et la limpidité remarquable du sérum obtenu.

MAI et ROTHENFUSSE² après de patientes recherches effectuées sur 844 échantillons de laits individuels et de mélange et portant sur le poids spécifique et l'indice de réfraction du sérum chlorurocalcique, sur le pourcentage de la matière grasse et du résidu sec maigre, observent que la réfraction du sérum chlorurocalcique est le facteur qui est sujet aux moindres variations et est, par conséquent, le plus important pour la recherche du mouillage, même quand ce mouillage est très faible. L'indice moyen oscille autour de 39,5 ($N_d : 1,3426$). La teneur en graisse est totalement indépendante de la réfraction, tandis que l'extrait dégraissé diminue avec l'élévation de la teneur en graisse.

WIEGNER et YAKUWA³ ont cherché les rapports qui existent entre la composition chimique du *lacto-sérum chlorurocalcique*, sa densité et son indice de réfraction. Les auteurs ont déterminé la réfraction spécifique des divers constituants de ce sérum.

On sait que la réfraction spécifique, ou constante de réfraction, est donnée par la formule de LORENZ-LORENTZ :

$$R = \frac{N^2 - 1}{N^2 + 2} \times \frac{1}{d}$$

dans laquelle N est l'indice de réfraction, à une température x, et d, la densité à la même température.

Le résultat de 35 analyses de lacto-sérum selon ACKERMANN a fourni comme composition moyenne de ce sérum les chiffres suivants :

¹ H.-C. LYTHGOE : Rep. Food and Drug Insp. Massachusetts. 37-38, 1908.

² MAI C. et. S. ROTHENFUSSE : *Beitrage zur Kenntnis der Lichtbrechung des Chlorcalciumserums der Milch.* Zeitch. f. Unt. der. Nahr. und Genuss. XVIII, 12, 737-763 1909.

³ G. WIEGNER et G. YAKUWA : *Über das Brechungsvermögen und das spezifische Gewicht des Chlorcalciumserums der Milch.* Milchwirtsch. Ztblt. V, 11 und 12, 1909.

Lactose	5,30 %
Cendres	0,53 %
Peptone	0,30 %
Acide citrique	0,10 %
Eau	93,85 %

Après avoir déterminé la réfraction spécifique des divers éléments constitutifs du sérum et multiplié la réfraction spécifique de chacun d'eux par la teneur centésimale du sérum en cet élément, la somme de ces produits, divisée par 100, donne la réfraction spécifique du sérum chlorurocalcique.

WIEGNER et YAKUWA arrivent à établir deux formules qui, à l'aide de la constante R, permettent de calculer le poids spécifique du sérum :

$$(I) \quad 0,2056 = \frac{N^2 - 1}{N^2 + 2} \cdot \frac{1}{d_{\frac{15}{15}}}$$

(N = indice de réfraction à 17°, 5, d $\frac{15}{15}$ = poids spécifique déterminé à 15° et rapporté à l'eau à 15°.)

$$(II) \quad 0,2058 = \frac{N^2 - 1}{N^2 + 1} \cdot \frac{1}{d_{\frac{t}{4}}}$$

(N = N_d à une température t : d $\frac{t}{4}$ = poids spécifique pris à la même température et rapporté à l'eau à 4° C.)

Le calcul du poids spécifique par la formule (I) concorde à 0,0003 près, avec les déterminations directes ; il reste donc dans la limite des erreurs d'expérience.

Par la comparaison des deux procédés, réfractométrique et picnométrique, on voit qu'une division au réfractomètre à immersion correspond à une différence de 0,0010 du poids spécifique.

Il résulte de ces recherches de WIEGNER et YAKUWA que l'indice de réfraction et la densité du sérum sont les éléments de valeur égale pour l'examen du lait.

G. WIEGNER¹ précise le résultat de ses recherches sur la chimie-physique du sérum chlorurocalcique du lait.

Partant des données précédemment acquises avec YAKUWA, il établit deux formules qui permettent de calculer l'extrait sec du sérum en fonction de sa densité ou de son indice de réfraction :

1° En fonction du poids spécifique de sérum chlorurocalcique déterminé à 20° C., par rapport à l'eau à 4° C., cet extrait sec t est donné par la formule :

$$t = 245,36 - 244,92 \frac{1}{d \frac{20}{4}}$$

2° Aux dépens de l'indice de réfraction du sérum à 20° C., t est donné par la formule :

$$t = 245,36 - \left(\frac{N^2 + 2}{N^2 - 1} \times 50,405 \right)$$

L'expérimentation et le calcul ont conduit à des résultats concordants.

S'appuyant sur les travaux de MAI et ROTHENFUSSE^r qui ont montré, d'après une série de 844 analyses, qu'il existe un rapport constant de 1,4054 entre l'extrait sec dégraissé et l'extrait sec total, WIEGNER établit deux formules qui permettent d'obtenir la valeur T du résidu sec maigre.

1° Aux dépens spécifique du sérum chlorocalcique à 20° C. par rapport à l'eau à 4° C. :

$$T = 344,83 - 344,22 \times \frac{1}{d \frac{20}{4}}$$

2° En fonction de l'indice de réfraction du sérum à 20° C. :

$$T = 344,83 - \frac{N^2 + 2}{N^2 - 1} \times 70,840.$$

METZGER, FUCHS et JESSER² ont observé que, dans la préparation du sérum chlorurocalcique avec des laits pathologiques à réaction alcaline, la quantité de 0,25 cm³ de solution de chlorure de calcium, prescrite par ACKERMANN, ne permet pas, en général, d'obtenir une coagulation

¹ G. WIEGNER : *Zur physikalischen- Chemie des Chlorcalciumserums der Milch*. Zeitsch. f. Unt. der. Nahr. u. Genuss. XX (2), 71, 86, 1910.

² O. METZGER, K. FUCHS et H. JESSER : *Beiträge zur Kenntnis der Einzelkuhmilch*. Zeitsch. f. Unt der Nahr. und Genuss. XIX (12), 720-747, 1910.

complète. Dans ces cas, en employant 0,5 cm³ de cette solution, et en faisant subir à l'indice trouvé une correction soustractive de 0,5 R. Z. R. Z. étant le chiffre réfractométrique des sérums d'Ackermann au réfractomètre à immersion de Zeiss à 17°5 (ou $N_d = 0,0002$), la coagulation complète est réalisée. Ils ont constaté que les sécrétions anormales ne cessent jamais brusquement et que, le plus souvent, elles ne varient pas pendant un temps assez long, ce qui est, pour les sécrétions pathologiques, une démonstration de la thèse de la constance de la réfraction, établie par MAI et ROTHENFUSSER.

FENDLER, BORKEL et REIDEMEISTER¹ cherchent à établir si, pour un même lait, il existe une relation certaine entre la réfraction du sérum au chlorure de calcium, *libre d'albumines*, et le poids spécifique du sérum acétique *contenant des albumines*.

Ces auteurs se livrent à un travail très minutieux portant sur 435 échantillons de laits. Pour chaque échantillon, ils déterminent la densité du sérum acétique à 15° C., le degré réfractométrique du sérum chloruro-calciique d'après ACKERMANN, la densité du lait à 15° C., le pourcentage d'extrait sec dégraissé et le pourcentage de matière grasse.

Ils arrivent à cette conclusion qu'il n'existe aucun rapport entre le poids spécifique du sérum acétique et l'indice de réfraction du sérum au chlorure de calcium. Ils ne trouvent, d'autre part, aucune relation entre la densité du sérum acétique et l'extrait sec dégraissé. Enfin, ils estiment qu'il existe une connexion à peine sensible entre l'extrait sec dégraissé et l'indice de réfraction.

Ils pratiquent leurs essais sur des laits de la région de Berlin et il en découle, au point de vue réfractométrique, les résultats suivants :

Réfraction		Nombre de résultats	Pourcentage
Au-dessous de 37	(1,3416)	10	2,3 %
de 37 à 37,4	(1,3416 à 1,3418)	13	3,0 %
de 37,5 à 37,9	(1,3418 à 1,3419)	96	22,1 %
de 38 à 38,4	(1,3420 à 1,3421)	170	39,1 %
de 38,5 à 38,9	(1,3422 à 1,3423)	91	20,9 %
de 39 à 39,4	(1,3424 à 1,3425)	38	8,7 %
de 39,5 à 39,6	(1,3426 à 1,3427)	15	3,4 %
de 40 et au-dessus	(1,3427)	2	0,5 %

¹ G. FENDLER, C. BORKEL et W. REIDEMEISTER : *Ein Beitrag zur Refraktometrie des Chlorcalciumserums der Milch*. Zeitschr. f. Unters. der Nahr. u. Genussm. XX, 156-169, 1910.

Rappelons qu'ACKERMANN avait constaté pour le lait normal, non falsifié, une réfraction comprise entre 38,5 et 40,5 (1,3422 et 1,3429.)

Ce même auteur¹ attire l'attention sur la possibilité, avec le sérum chlorurocalcique, de calculer, en s'appuyant sur les travaux de WIEGNER, le poids spécifique du sérum au moyen de sa réfraction, et inversement.

Ce même auteur attire l'attention sur la possibilité, avec le sérum chlorurocalcique, de calculer, en s'appuyant sur les travaux de WIEGNER, le poids spécifique du sérum au moyen de sa réfraction, et inversement.

G. WIEGNER a établi dans ce but deux formules pour le réfractomètre à immersion :

$$(1) \quad R. Z. = 970,88 \, d \frac{15}{15} - 957,06$$

$$(2) \quad d \frac{15}{15} = 0,00103 \, R. Z. + 0,98578$$

formules dans lesquelles R. Z., nous l'avons vu plus haut, est le chiffre réfractométrique des sérums d'ACKERMANN au réfractomètre à immersion de ZEISS à 17°5 C. et $d \frac{15}{15}$ la densité du même sérum à 15° C.

ACKERMANN calcule d'après la formule de WIEGNER le poids spécifique à partir de la réfraction pour le lait et ses dilutions jusqu'à 50 %. Il établit un diagramme qui représente une ligne droite. Il détermine, d'autre part, le poids spécifique de ces dilutions et porte sur le diagramme les valeurs correspondantes. Il observe une concordance remarquable entre les résultats de la théorie et ceux de la pratique.

MAI et ROTHENFUSSER² opérant sur des laits individuels montrent que *pour ces laits, comme pour les laits de mélange, les variations naturelles de l'indice de réfraction diffèrent très peu avec l'âge, l'époque de la lactation, le travail pénible, le fait que la vache nourrisse ou non son veau et même avec les brusques changements, de nourriture.* Ils tiennent donc pour démontré à nouveau que la réfraction du sérum chlorurocalcique permet de déterminer, de la façon la plus sûre, si un lait a été falsifié.

¹ E. ACKERMANN. *Beitrag zur Untersuchung der Milch.* Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. I (5) 263, 270, 1910.

² C. MAI et S. ROTHENFUSSER : *Zur Refraktometrie des Chlorcalciumserums der Milch einzelner Kühe.* Zeitsch. f. Unt. der Nahr. u. Genussm. XXI (1), 23,37, 1911.

LUHRIG et KRESZNER¹ établissent que le poids spécifique du *sérum spontané* ne subit que peu de modifications si le lait a été traité à la température ordinaire ou à celle de l'étuve.

A un abaissement du poids spécifique de ce *sérum* semble correspondre une diminution de la réfraction.

Le pouvoir réfringent du *sérum spontané* de lait non mouillé est supérieur à la graduation 40 de l'échelle du réfractomètre à immersion (1,3427).

La différence entre la réfraction du *sérum spontané* et celle du *sérum chlorurocalcique* du lait n'est pas homogène ; il en résulte l'impossibilité de déduire une des grandeurs de l'autre. On est exposé à obtenir des résultats différents avec des laits non mélangés d'une même étable.

Enfin, le poids spécifique du *sérum spontané* donne des indications équivalentes à celles de la réfractométrie du *sérum chlorurocalcique*. Si on peut procéder à une contre-épreuve à l'étable, on peut calculer avec une très grande exactitude la valeur d'un mouillage par l'une ou l'autre de ces deux dernières méthodes.

PFYL et TURNAU² utilisent deux *sérums acétiques* qu'ils dénomment tétrasérums I et II.

Le *tétrasérum I* est fabriqué à froid, en traitant le lait cru d'abord par le tétrachlorure de carbone, puis par l'acide acétique à 20 %. Ce *sérum* contient lactalbumine et lactoglobuline.

Le *tétrasérum II* libre d'albumines coagulables, est préparé comme le précédent, mais en opérant, après refroidissement, sur le lait chauffé pendant 20 minutes au bain-marie bouillant dans un ballon muni d'un tube à reflux.

L'emploi simultané de ces deux sérums permet de rechercher l'addition de lait bouilli au lait frais ou de dire si le lait a été ou non chauffé. La différence entre la réfraction du *tétrasérum I* et celle du *tétrasérum II* permet de doser les albumines.

Pour chacun des deux tétrasérums, le poids spécifique et la réfraction se déplacent parallèlement, mais à la même valeur de la réfraction

¹ H. LUHRIG et L. KRESZNER : *Weitere Beiträge zur Untersuchung und Beurteilung der Milch*. Molk. Zeitg. XXIX. 3, 12, 1911.

² B. PFYL et H. TURNAU : *Über verbesserte Herstellung von Milchseren und ihre Anwendbarkeit zur Untersuchung der Milch*. Berlin. Chem. Laboratorium des Kais. Gesundheitsamtes, février 1912.

correspond un poids spécifique plus élevé pour le tétrasérum II que pour le tétrasérum I.

Il en résulte que *la teneur en albumines influence la réfraction dans une proportion plus grande que le poids spécifique.*

MOLLENHAUER¹, à la suite d'une étude très poussée sur la réfractométrie et la cryoscopie du *sérum chlorurocalcique*, arrive aux conclusions suivantes : *Pour la recherche du mouillage éventuel du lait, la détermination de l'indice de réfraction est la méthode de choix à cause de sa grande rapidité* ; elle est préférable à la recherche du poids spécifique.

La détermination du point de congélation des laits peut donner une idée approximative de leur constitution ; cependant les variations du point de congélation sont grandes en comparaison de celles de la réfraction, de l'extrait sec, et des cendres du sérum d'ACKERMANN, même dans un lait de mélange.

MOLLENHAUER conclut qu'il ne peut attribuer la même importance à la détermination du point de congélation du lait qu'à celle des autres valeurs précédemment citées.

L. PANCHAUD et M^{lle} AUERBACH² recherchent, sur des laits de provenances et de fraîcheurs différentes, l'écart qui existe entre le lactose déduit de la méthode réfractométrique et le lactose déduit de la méthode gravimétrique.

Ils concluent que :

1° *Pour des laits frais, normaux ou mouillés, il y a une concordance remarquable entre les deux méthodes.*

2° *Lorsqu'il s'agit de laits vieux, acidifiés, la méthode réfractométrique donne des résultats trop élevés.*

3° *Pour les laits anormaux de vaches malades, chez lesquels les chlorures sont augmentés et où les albumines et la caséine sont mal précipitées par le chlorure de calcium, le résultat se traduit par une augmentation du chiffre réfractométrique, de sorte que le sucre de lait qu'on en déduit est trop fort.*

¹ E. MOLLENHAUER : *Studien über das aus Milch hergestellte Chlorcalciumserum und über Gefrierpunktsbestimmungen der Milch*. Inaugural Dissertation, Königsberg i. Pr. 1914.

² L. PANCHAUD et M^{lle} E. AUERBACH : *Sur le dosage réfractométrique du sucre de lait*. Travaux de chim. alim. et d'hyg. publiés par le Serv. suisse de l'hygiène publique. IX (5). 236, 239, 1918.

AMBUHL et WEISS¹ préconisent la préparation à froid d'un *lacto-sérum chloruromercurique* pour la détermination de l'indice de réfraction. Le lacto-sérum est toujours clair, quelle que soit l'acidité du lait, et sa préparation est rapide. Son indice de réfraction pour un lait normal est de 42,3 divisions du réfractomètre à immersion de ZEISS ($N_d = 1,3436$).

La différence entre les chiffres réfractométriques des sérums chlorurocalcique et chloruromercurique d'un même lait frais est constante et égale à 3,3 divisions du réfractomètre à immersion de ZEISS ($N_d = 0,0013$).

PANCHAUD² se livre à une étude comparative entre le sérum chloruromercurique d'AMBUHL et WEISS et le sérum chlorurocalcique d'ACKERMANN.

Le sérum chloruromercurique des laits acides est très clair et l'indice de ce sérum diminue avec le degré d'acidité du lait.

Cet auteur ne pense pas que le sérum chloruromercurique soit appelé à remplacer le sérum chlorurocalcique.

PANCHAUD³ recherchant la cause de l'augmentation de l'indice de réfraction du sérum chlorurocalcique des laits aigris trouve qu'elle est due principalement à la formation de lactate de chaux aux dépens de la chaux de la caséine. Le lactate de chaux reste en solution dans le sérum, en élève la réfraction jusqu'à ce que toute la chaux de la caséine soit saturée. Ce point atteint, la réfraction baisse, reprend la valeur qu'elle avait primitivement pour le lait frais, puis diminue encore.

¹ G. AMBUHL et H. WEISS : *Mitteilungen aus dem Gebiete der Nahrungsmitteluntersuchung*. 10-53, 1919.

² L. PANCHAUD : *Etude sur les sérums chloromercurique et chlorocalcique du lait*. Mitt. a. dem Geb. der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. XXII (1), 26,35, 1921.

³ L. PANCHAUD : *Sur l'augmentation anormale de l'indice de réfraction du sérum chlorocalcique des laits aigris*. Le Lait. V. 777-782, 1925.

CHAPITRE II

Causes des différences entre les indices de réfraction fournis, pour un même lait, par les diverses méthodes de préparation des lacto-sérums ¹

(RECHERCHES PERSONNELLES.)

Pour un même lait, nous avons déterminé l'indice de réfraction des lacto-sérums obtenus par la plupart des différentes méthodes de préparation indiquées précédemment et nous avons trouvé les résultats suivants, à la température de 20° C.

TABLEAU I

Sérum à l'asaprol	n = 1,3419
Sérum au cuivre	n = 1,3419
Sérum chlorurocalcique	n = 1,3421
Tétrasérum II	n = 1,3427
Sérum spontané	n = 1,3433
Sérum chloruromercurique	n = 1,3434
Tétrasérum I	n = 1,3437
Sérum acétique	n = 1,3439

On ne peut qu'être frappé par les différences d'indices fournis par ces méthodes.

Nous avons classé délibérément celles-ci d'après l'augmentation qu'elles font subir à l'indice de réfraction et l'on peut constater qu'entre les indices extrêmes, il y a une différence de 0,0020.

Nous avons cherché à nous expliquer la cause de ces écarts. Pour les deux premiers sérums, il est hors de doute, que le faible indice obtenu est dû, en grande partie, à la dilution du lait par le coagulant employé.

¹ Tout ce qui suivra à partir de ce chapitre, s'applique à des laits de mélange et non à des laits individuels sujets, comme on le sait, à de grandes variations dans leur composition et dans leurs propriétés.

Dans le cas de l'asaprol, la dilution atteint 100%, alors qu'elle n'est plus que de 25 % pour le sérum au cuivre et seulement de 0,83 % pour le sérum chloro calcique.

Indépendamment de la dilution, il faut aussi attribuer une influence manifeste au coagulant qui suivant sa nature, augmente par son addition au lait plus ou moins lourdement l'indice de réfraction.

Mais il est un fait sur lequel nous ne saurions trop attirer l'attention, c'est la différence que nous constatons ici entre l'indice des deux tétrasérums I et II, différence qui se traduit par 0,0010.

Or le tétrasérum I préparé à froid renferme les deux albumines du lait : la lactalbumine et la lactoglobuline et le tétrasérum II en est totalement dépourvu puisque le lait servant à sa préparation a été chauffé pendant vingt minutes, au bain-marie bouillant, dans un récipient muni d'un réfrigérant ascendant, pour éviter la perte d'eau par évaporation.

La présence des albumines dans le tétrasérum I produit donc une augmentation d'indice de 0,0010, pour le lait expérimenté.

Des nombreuses expériences auxquelles PFYL et TURNAU se sont livrés, il résulte que les albumines, suivant la nature des laits envisagés, apportent dans l'indice de réfraction du tétrasérum I une augmentation variant entre 0,0003 et 0,0012. Nous avons pu vérifier, par de nombreuses recherches, que cette différence existe véritablement et, dans la majorité des cas, dans le sens de l'augmentation la plus grande.

Et si l'on veut bien se rappeler que pour leur sérum acétique, renfermant des albumines, HENSEVAL et MULIE trouvent comme limites extrêmes à leurs indices 1,3430 et 1,3442 (différence 0,0012), il sera facile de voir que sur un lait riche en albumines, une addition d'eau de 10 %, abaissant cependant l'indice de 0,0010, pourra passer inaperçue.

Dans un travail antérieur¹, nous avons recherché les causes qui occasionnent les différences d'indices fournis par les divers modes de préparation des lacto-sérums, et nous avons constaté que la présence des albumines dans les sérums acétiques, en particulier, était une source indiscutable d'augmentation d'indice.

¹ A. LATAIX : *Contribution à la comparaison des divers modes de préparation des sérums de lait pour la réfractométrie*. VII^e Congrès International de Laiterie, Paris 1926, 200.

Détermination de l'indice de réfraction absolu (N_0) du lacto-sérum.

Nous avons cherché à déterminer l'indice de réfraction absolu N_0 du lacto-sérum, abstraction faite du coagulant employé.

Nous avons atteint ce but par deux méthodes qui donnent des résultats concordants pour un même lait.

1° *La filtration du lait sur filtre de collodion ou ultrafiltration.*

2° *La méthode graphique, permettant d'obtenir, au moyen de courbes, l'indice de réfraction absolue N_0 du lacto-sérum, abstraction faite du coagulant.*

1° FILTRATION DU LAIT SUR COLLODION (ULTRAFILTRATION)

L'idée de la filtration du lait est déjà ancienne. Dès 1857, BOUCHARDAT et QUEVENNE montraient qu'en filtrant du lait frais sur plusieurs doubles de papier et en remettant les premières portions sur le filtre, jusqu'à ce qu'elles passent claires, on finit par obtenir un liquide limpide ou à peine opalescent, qui se trouble plus ou moins fortement sous l'action de la chaleur.

HOPPE-SEYLER¹, en 1859 signalait que la transsudation du lait à travers une membrane organique lui avait fait obtenir un liquide faiblement opalescent, donnant, lorsqu'on le chauffait entre 70 et 75°, des flocons albumineux.

La même année, ZAHN² remplaça ce filtre organique par un cylindre en terre poreuse, à travers lequel il fit passer le lait. Il obtenait ainsi un filtrat limpide, dans lequel se trouvait une substance se coagulant par la chaleur. En plus de l'albumine, la liqueur contenait du lactose et des sels en solution dans l'eau.

A. GAUTIER et E. DUCLAUX répètent avec succès l'expérience de ZAHN.

¹ HOPPE-SEYLER : *Untersuchungen über die Bestandtheile der Milch*. Virchows Archiv. XVII, 1859.

² ZAHN : *Untersuchungen über die Eiweisskörper der Milch*. Pfügers Archiv. II, 1869.

Remarquons donc que les filtrats de lait obtenus par BOUCHARDAT, QUEVENNE, HOPPE-SEYLER. ZAHN, GAUTIER et DUCLAUX se troublent tous sous l'action de la chaleur ; ces filtrats renferment de l'albumine.

Il fallait donc imaginer un filtre à pores suffisamment serrés pour que cette albumine fut retenue *en totalité*, de manière à obtenir un lactosérum idéal représentant intégralement une *solution vraie*.

Le moment est venu de rappeler ici les travaux de G. CORNALBA, de G. WIEGNER et ceux du Professeur Ch. PORCHER sur la constitution colloïdale du lait.

En 1908, G. CORNALBA¹, de Lodi, remarque que les composants du lait se trouvent dans la masse liquide sous différentes formes savoir : à l'état d'*émulsion*, à l'état de *suspension colloïdale*, à l'état de *solution*.

L'auteur estime d'après ses nombreuses recherches que « l'ensemble des éléments dissous dans le lait se comporte tout différemment que les matériaux non dissous, émulsionnés ou à l'état colloïdal, c'est-à-dire la graisse et la caséine, considérés tant en eux-mêmes que dans leur ensemble : les premiers se maintiennent dans le lait dans une proportion assez constante, tandis que les autres présentent des oscillations assez grandes ».

G. WIEGNER² estime d'après ses travaux que, dans le lait, l'eau sert d'agent de dispersion. Les *globules gras* se trouvent à l'état de microns visibles de $10\ \mu$ à $1,6\ \mu$ de diamètre. Les particules de *caséine* sont ou bien des submicrons, en petite quantité, ou bien surtout des amicrons, de $0,1\ \mu$ à $0,005\ \mu$. L'*albumine* se trouve probablement sous la forme d'amicrons de $15\ \mu\mu$ à $5\ \mu\mu$.

Le *lactose* est constitué par des molécules dont la dimension d'après LOSCHMIDT, peut être évaluée de $1,1\ \mu$ à $0,067\ \mu\mu$. Enfin les *matières salines* sont à l'état d'ultramicros, de molécules, et surtout d'ions mesurant de $5\ \mu\mu$ à $4\ \mu\mu$.

Quant on fait l'étude quantitative d'un grand nombre d'échantillons de lait, on constate que ce sont les constituants les plus grands,

¹ G. CORNALBA : Une constante chimique du lait comme critérium nouveau plus sûr et plus précis pour l'appréciation de la pureté du lait. Revue Générale du Lait, VII. N° 2 et suivants, 1908.

² G. WIEGNER : Über die Abhängigkeit der Zusammensetzung der Kuhmilch vom Dispersitätsgrade ihrer Einzelbestandteile. (Zweiter Beitrag zur Kolloid-Chemie der Milch.) Z.f. der N. und G. XXVII, 425, 43, 1914.

les moins divisés, qui sont le plus sujets à variation, en premier lieu la graisse, puis les protéines.

Le lactose et les matières minérales, qui sont à l'état moléculaire ou ionisé, sont en quantité relativement plus constante que les autres éléments.

Le Professeur Ch. PORCHER¹ enfin, dans ses remarquables travaux sur la constitution colloïdale du lait, donne de cette sécrétion une image complète et précisée dans ses détails. Se servant de la classification d'OSTWALD sur les systèmes dispersés, l'auteur arrive à cette conclusion que le lait affecte tout à la fois le caractère d'une *émulsion*, celui d'une *solution colloïdale*, et enfin celui d'une *solution vraie*.

A. **Emulsion** : par la dispersion de la matière grasse dans la partie aqueuse, non grasse du lait, laquelle est une solution mixte de cristalloïdes et de colloïdes ;

B. **Solution colloïdale** : le lait constitue un mélange composite, puisque on y rencontre à l'état de particules colloïdales dispersées des substances très différentes au point de vue chimique ;

a) *Des matières protéiques* que l'auteur range sous deux chefs différents :

1° *L'albumine* et le *globuline*, protéines non vraiment caractéristiques de la sécrétion lactée. « Les dimensions de leurs particules sont des plus petites dans la série, puisque lorsqu'on filtre le lait sur des bougies de porcelaine à pâte tendre, ces substances les traversent, en partie du moins ; près des 2/5 de l'albumine passent, le reste étant retenu sur le filtre en même temps que les autres colloïdes qui constituent le complexe caséinate de chaux + phosphate de chaux. L'albumine et la globuline affectent l'état *colloïdal moléculaire*.

2° *La caséine*, éther phosphorique d'un groupement protéique possédant des fonctions alcools dans ses acides aminés. La caséine existe dans le lait à l'état salifié, sous forme de caséinate de chaux, qui est uni colloïdalement au phosphate de chaux.

b) Un colloïde purement minéral, le *phosphate de chaux*, uni au caséinate de chaux et qui est en réalité un mélange de phosphates bibasique

¹ Ch. PORCHER : *Le lait au point de vue physico-chimique. Sa constitution colloïdale.* VII^e Congrès International de Laiterie, Paris, 1926.

et tribasique avec toujours une petite proportion des sels correspondants de magnésie.

C. **Solution vraie** enfin: si le lait est supposé débarrassé de sa matière grasse et de ses matières protéiques — et cela ajoute le Professeur Ch. PORCHER, nous ne le pouvons concevoir encore que théoriquement — la liqueur obtenue est une solution vraie : solution ionique par ses sels : phosphates alcalins (mono et bipotassique), citrates (tripotassique, tricalcique et trimagnésien), chlorures (sodique et potassique); c'est une solution moléculaire par ses non électrolytes : d'un côté le lactose, composé très caractéristique du travail mammaire, de l'autre l'urée et dans son ensemble tout l'azote non protéique. »

Cette solution vraie, est notre lacto-sérum idéal, celui que nous avons pu obtenir par l'ultrafiltration et qui ne renferme aucune trace d'albumine et de globuline, grâce à la trame serrée du filtre de collodion que nous avons employé.

Technique de l'ultrafiltration

Pour la fabrication de nos filtres de collodion, nous avons utilisé le procédé indiqué par J. DUCLAUX¹.

Nous avons employé le mélange, à parties égales, du collodion donnant des membranes à gros pores et du collodion donnant un filtre très serré que l'auteur indique dans son ouvrage.

Pour les membranes à gros pores :

Alcool à 96°	500 cm ³
Ether à 65°	500 cm ³
Coton azotique	20 grammes

Pour les membranes à pores serrés :

Alcool à 96°	250 cm ³
Ether à 65°	700 cm ³
Coton azotique	50 grammes

Nous avons adopté le montage indiqué, en premier lieu, par MALFITTANO : « La membrane a la forme d'un sac et est ficelé à l'extrémité d'un tube de verre de même diamètre et ouvert aux deux bouts ».

¹ J. DUCLAUX : *Les Colloïdes*. Gauthier-Villars & C^{ie}, Paris, 1920. P. 65 et suiv.

Ce sac se prépare en plongeant dans le collodion un moule de la grosseur et de la longueur voulue. Ce moule est un tube de verre cylindrique, fermé à un bout et légèrement dilaté à une certaine distance du fond. On le plonge dans le collodion jusqu'à la partie dilatée, on retire lentement et en laissant sécher à l'air, en tournant entre les doigts, jusqu'à ce que le collodion ait fait prise.

A ce moment, on plonge le tube dans l'eau distillée pour éviter la dessiccation du manchon ; on le décolle doucement du verre dans la partie dilatée et on l'extrait en le retournant comme un doigt de gant. Au lieu d'une seule couche de collodion, on peut en mettre deux ou plusieurs, en attendant chaque fois que la précédente ait fait prise. Nous avons utilisé des filtres à trois couches pour nos expériences.

Pour réussir cette opération, il faut une certaine dextérité ; elle est plus facile avec les filtres de texture moyenne. Les filtres très mous sont fragiles et l'on peut les déchirer en les extrayant. Les filtres durs ont une tendance à devenir blancs et opaques par places ; il faut les retirer *très lentement* du collodion pour avoir une couche mince et éviter cet inconvénient. L'opération ne dure en tout que quelques minutes.

Le manchon, une fois préparé, est ficelé (avec intercalation d'une feuille de papier mince) à l'extrémité d'un tube de verre. Il est alors rempli d'eau, plongé quelque temps dans l'eau distillée, pour éliminer les dernières traces d'alcool et d'éther. »

Nous avons utilisé des manchons de 1,5 centimètre de diamètre sur 6 centimètres de longueur.

Après avoir interposé entre l'extrémité du tube de verre et la partie libre du manchon une feuille de papier à cigarette, nous ligaturons soigneusement au moyen d'un gros fil faisant plusieurs tours. La ligature est ensuite recouverte au pinceau de trois couches de collodion. Les filtres sont remplis d'eau distillée et conservés dans ce liquide.

Pour la filtration du lait, le tube de verre est monté sur un flacon à filtration par le vide, dont il traverse le bouchon de caoutchouc, qui assure une fermeture hermétique. L'ultrafiltre est vidé de l'eau distillée qu'il renferme, soigneusement essuyé extérieurement avec un linge fin, et rincé à plusieurs reprises intérieurement avec du lait de l'échantillon à filtrer, avant d'être rempli. Le filtrat est recueilli dans une petite éprouvette à fond plat dans laquelle pénètre l'extrémité du sac de collodion.

Le filtre fonctionnant sous une pression de 17 centimètres de mercure (pression qu'il ne faut pas dépasser sous peine de voir le sac se détacher du tube de verre), débite en une heure et demie environ 1 centimètre cube de lacto-sérum limpide comme de l'eau distillée.

Ce débit très réduit de nos filtres nous avait incité à rechercher un moyen d'obtenir une surface filtrante plus considérable et conséquemment un rendement supérieur. La grosse difficulté à vaincre en l'occurrence, est d'éviter les ruptures qui se produisent au moment du décollement du sac de collodion. C'est alors que le procédé de A. LUMIÈRE et J. CHEVROTIER¹ attira notre attention. Ces auteurs modèlent au moyen d'une pâte plastique, consistante et soluble dans l'eau, les moules ayant la forme que l'on désire donner au sac de collodion. Leur mélange est constitué par une partie de sirop de glucose et deux parties de sucre en poudre dit « sucre glacé ». Les moules sont fixés à l'extrémité d'un agitateur en verre et immergés dans le collodion en leur faisant subir un mouvement de rotation pour répartir uniformément la couche. On laisse sécher, puis on suspend le dispositif à la partie supérieure d'un récipient rempli d'eau. Le liquide traverse le filtre, dissout le sucre et au bout de quelques heures, le sac se trouve libéré.

Propriétés du lacto-sérum d'ultrafiltration

Substances albuminoïdes. — *Le lacto-sérum obtenu par ultrafiltration du lait ne renferme pas de substances albuminoïdes.*

En effet, si on le chauffe, il ne se produit aucune coagulation. Après neutralisation, traité à froid par le sulfate de magnésium à saturation il ne donne aucun précipité, il ne contient donc pas de lactoglobuline.

De même traité à froid par une solution concentrée de chlorure de sodium, il ne donne pas de précipité; c'est qu'il ne renferme pas de lactalbumine.

Quand on le traite par l'acide nitrique, il ne se produit ni coagulation, ni précipité : il ne contient donc ni protéines, ni albumoses primaires.

Traité par le même acide, après saturation en chlorure de sodium, il ne donne pas de précipité; c'est qu'il ne renferme donc ni albumoses secondaires, ni peptones.

¹ Voir in CALMETTE, NÈGRE et BOQUET : *Manuel technique de Microbiologie et de Sérologie*. Masson, Editeur, 1925, 176.

Réfraction. — Au point de vue réfractométrique, les résultats de nos recherches sont les suivants. Nous avons opéré sur environ 200 échantillons de laits de mélange de la région de Dijon et l'indice de réfraction absolu N_o de leurs lacto-sérums a été compris entre 1,3415 et 1,3424 ; l'indice était pris à la température de 20° C.

Nous avons choisi cette température de 20° C. parce qu'elle est facilement obtenue au laboratoire en toutes saisons. Les auteurs allemands et suisses prennent comme base, avec le réfractomètre à immersion de ZEISS, la température de 17°5 C. qui, disent-ils, aussi bien en été qu'en hiver, est aussi voisine que possible de la température normale des appareils. En France, en été, la température de 17°5 C. est trop facilement dépassée et à plus forte raison celle de 15° C., préconisée par HENSEVAL et MULLIE.

L'obtention des lacto-sérums par ultrafiltration est uniquement une *méthode de laboratoire* ; elle ne saurait être utilisée dans la pratique courante en raison des difficultés de son exécution matérielle et de l'extrême lenteur de la filtration. Elle n'avait pour but, dans notre esprit, que de nous donner une base pour calculer, à partir de l'indice qu'elle nous fournissait, l'augmentation que faisaient subir, dans les divers modes de production des sérums de lait habituellement utilisés, l'addition des divers coagulants employés.

Si nous désignons cette valeur de l'indice du sérum d'ultrafiltration par N_o , les indices fournis par les diverses autres méthodes seront par ordre de valeur croissante résumées dans le tableau suivant :

TABLEAU II

Méthodes de production des lacto-sérums	Valeur des indices de réfraction
Sérum à l'asaprol	$N_o + 0,0001$
Sérum au sulfate de cuivre	$N_o + 0,0001$
Sérum chlorurocalcique	$N_o + 0,0003$
Tétrasérum II	$N_o + 0,0009$
Sérum spontané	$N_o + 0,0015$
Sérum chloruromercurique	$N_o + 0,0016$
Tétrasérum I	$N_o + 0,0019$
Sérum acétique	$N_o + 0,0021$

2^o MÉTHODE GRAPHIQUE

Sur des quantités égales et déterminées d'un même lait, nous provoquons la coagulation avec des solutions de concentration variant entre elles comme 1, 2, 3, etc... de manière à toujours ajouter, autant que possible, le même volume de solution coagulante à la même quantité de lait. Les indices de réfraction des lacto-sérums ainsi obtenus sont ensuite déterminés à la même température de 20° C.

Sur une feuille de papier quadrillé, nous portons en abscisses les concentrations et en ordonnées les indices lus au réfractomètre et correspondants à ces concentrations.

Les points ainsi déterminés pour chaque coagulant sont reliés entre eux et la ligne qui les unit est prolongée jusqu'à l'ordonnée O.

Cette méthode graphique nous a permis de constater les faits suivants :

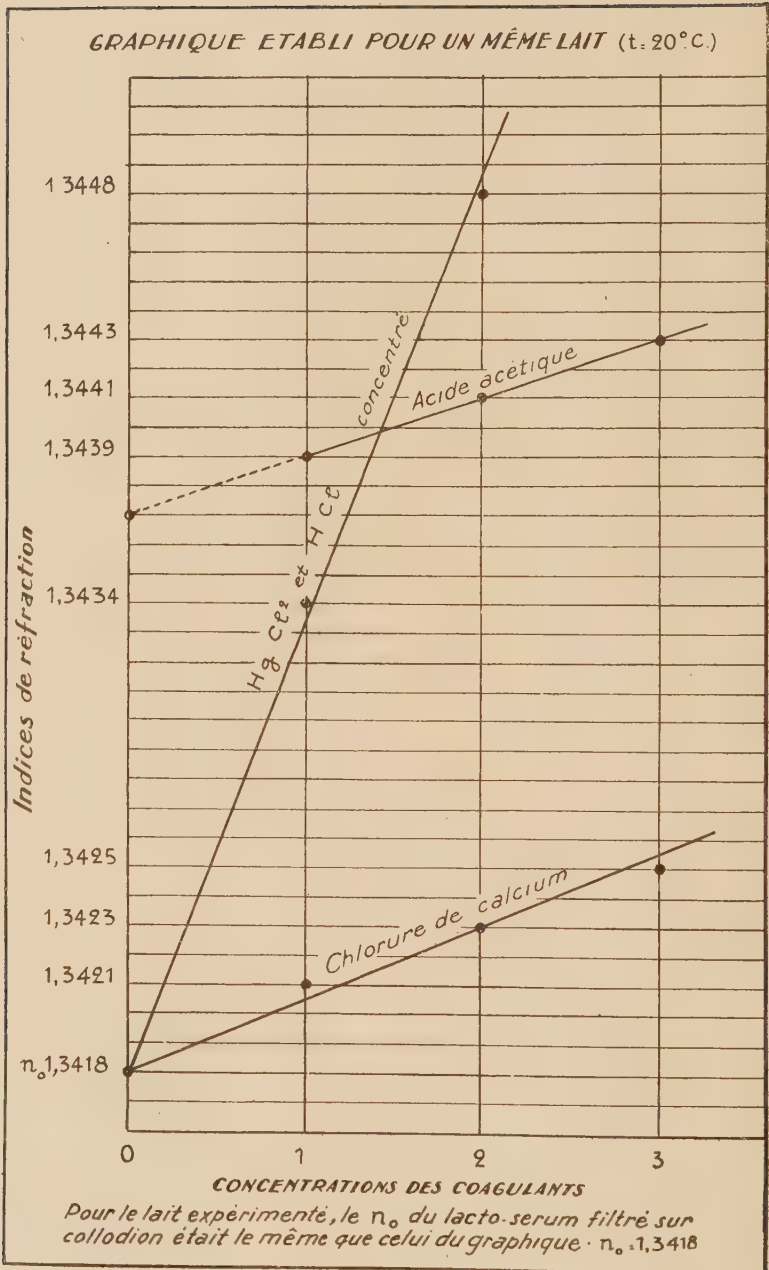
1^o Dans tous les cas, pour les divers coagulants employés, la courbe figurative des variations de n , en fonction de la concentration du coagulant est un segment de droite.

2^o Pour chaque coagulant, si l'on opère avec des laits différents, les droites ainsi obtenues, et portées sur un même graphique, sont parallèles : elles ont le même coefficient angulaire.

3^o Obtenus pour un même lait, avec certains coagulants, ces segments de droite, prolongés jusqu'à l'ordonnée O, convergent tous en un même point et l'indice de réfraction qui correspond à ce point est exactement le N_0 du lacto-sérum obtenu par ultrafiltration du lait expérimenté.

De cette manière, par la méthode graphique, N_0 nous est donné par le sérum chloruromercurique et par le sérum chlorurocalcique, c'est-à-dire par des sérums libres d'albumines, ce qui prouve bien que les albumines apportent à l'indice de réfraction des lacto-sérums une augmentation qu'il convient de ne pas négliger.

Le graphique joint à cet exposé a été établi en opérant sur le même lait, pour trois espèces de lacto-sérums :



1^o *Sérum acétique* (d'après HENSEVAL et MULLIE).

50 cm³ de lait ont été traités par :

1 cm³ d'acide acétique à 20 % (abscisse 1), $n = 1,3439$

» » » 40 % (abscisse 2), $n = 1,3441$

» » » 60 % (abscisse 3), $n = 1,3443$

Dans les trois cas, le chauffage a été fait à la température de 65°-70° pendant une durée de cinq minutes.

2^o *Sérum chloruromercurique* (Ambuhl et Weiss).

30 cm³ de lait ont été traités par :

0,3 cm³ de solution chloruromercurique d'AMBUHL et WEISS
(abscisse 1), $n = 1,3434$

0,6 cm³ de solution chloruromercurique d'AMBUHL et WEISS
(abscisse 2), $n = 1,3448$

3^o *Sérum chlorurocalcique* (Ackermann).

30 cm³ de lait ont été traités par :

0,25 cm³ une solution de chlorure de calcium à 20 %
(abscisse 1), $n = 1,3421$

0,25 cm³ une solution de chlorure de calcium à 40 %
(abscisse 2), $n = 1,3423$

0,25 cm³ une solution de chlorure de calcium à 60 %
(abscisse 3), $n = 1,3425$.

Pour chaque méthode de coagulation les points correspondants aux indices trouvés sont reliés par une droite et cette droite est prolongée jusqu'à l'ordonnée O.

Un simple examen du graphique permet de constater que les droites ainsi obtenues avec les sérums chloruromercurique et chlorurocalcique (libres d'albumines) convergent en un même point de l'ordonnée O correspondant à l'indice de réfraction 1,3418 qui est le N_0 trouvé après examen réfractométrique du lacto-sérum d'ultrafiltration du lait soumis à cette expérience.

Par la méthode à l'acide acétique, la droite obtenue, prolongée (en pointillé) jusqu'à l'ordonnée O donne un indice bien supérieur à N_0 à cause des albumines acéto-solubles qui augmentent lourdement l'indice de réfraction.

Et si l'on veut bien remarquer qu'aux concentrations de l'abscisse 1 correspondent les indices fournis normalement par les trois méthodes expérimentées, on constatera, qu'en concordance avec le Tableau II, ces méthodes augmentent l'indice absolu N_0 des valeurs suivantes :

Sérum chlorurocalcique...	Indice de réfraction	= $N_0 + 0,0003$
Sérum chloruromercurique	»	= $N_0 + 0,0016$
Sérum acétique	»	= $N_0 + 0,0021$

Les augmentations apportées à l'indice de réfraction véritable du lacto-sérum sont donc imputables à *la nature du coagulant employé* et à *la présence d'albumines au sein du lacto-sérum*.

CHAPITRE III

Part revenant, dans l'indice de réfraction, à chacun des composants du lacto-sérum d'ultra- filtration.

(RECHERCHES PERSONNELLES.)

Le lacto-sérum d'ultrafiltration étant obtenu et son indice étant déterminé, il nous a paru intéressant de rechercher la part qui revient, dans l'indice de réfraction, à chacun de ses composants.

Aborder le problème par la voie analytique ne nous était pas permis. En effet, le faible débit de nos ultra-filtres ne nous fournissait pas — même en multipliant leur nombre — une quantité de sérum suffisante pour en permettre l'analyse chimique. Devant cette difficulté, nous avons résolu d'opérer par la voie synthétique, en nous appuyant, pour guider nos recherches, sur le remarquable travail du Professeur Ch. PORCHER et de A. CHEVALLIER : « *La répartition des matières salines dans le lait. Leurs relations physiques et chimiques avec les autres principes du lait* ¹ ». Dans leur étude, ces auteurs ont pris comme base les données purement chimiques de l'analyse et se sont appliqués, partant de ces données, à reconstituer un lait de synthèse satisfaisant, pour chacun de ses composants et pour son ensemble, aux diverses données physico-chimiques caractéristiques du lait : abaissement cryoscopique, pouvoir réfringent et résistivité électrique.

Après de nombreux tâtonnements, nous nous sommes rallié, pour la reconstitution de nos sérums, à la combinaison I de matières salines admises, pour un litre de lait, par Ch. PORCHER et CHEVALLIER et résumée ci-dessous :

¹ *Le Lait*. 3^e année. Nos 2, 3, 4.

TABLEAU III

Matières salines	en gr. par litre de lait
Chlorure de sodium	1,09
» de potassium	0,92
Sulfate de potassium	0,15
Citrate tricalcique	1,80
» tripotassique	0,75
» trimagnésien	0,70
Phosphate monopotassique	1
» bipotassique	1,10
Urée (correspondant à l'azote non protéique)	0,50
Bicarbonate de soude	0,25

MODE OPÉRATOIRE

Opérant en hiver, pour que nos échantillons de lait ne subissent pas d'altérations rapides par acidification lactique, nous avons utilisé 10 laits de mélange partiellement écrémés de la région de Dijon¹.

Avec chacun de ces échantillons de laits, nous avons obtenu le lacto-sérum d'ultrafiltration et nous avons déterminé son indice de réfraction N₀ à la température de 20° C.

Dans le même temps, pour que le lait ne subisse pas d'acidification lactique, nous avons déterminé ses diverses propriétés suivantes :

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| 1° Densité à 15° C., | 5° Caséine |
| 2° Matière grasse, | 6° Acidité lactique, |
| 3° Extrait calculé, | 7° Lactose hydraté, |
| 4° Extrait dégraissé, | 8° Chlorure de sodium |

se rapportant au litre de lait.

Le dosage de la *matière grasse* et de la *caséine* a été fait par la méthode officielle d'analyse sans centrifugation.

Le dosage du *lactose hydraté* a été fait par réduction avec la liqueur

¹ Le fait d'avoir employé des laits demi-écrémés est sans importance au point de vue réfractométrique puisque, comme nous l'avons vu, l'indice de réfraction d'un lacto-sérum est totalement indépendant de la teneur du lait en matières grasses : les indices des sérums du lait entier, de la crème et du lait écrémé sont en effet identiques.

de FEHLING ; enfin, le dosage du *chlore* a été effectué par la méthode CHARPENTIER-VOLHARD, en milieu acide, avec solution titrée d'azotate d'argent $\frac{n}{10}$ et de sulfocyanate de potassium $\frac{n}{10}$.

Le poids de la matière grasse étant connu, son volume nous a été donné en divisant le poids par sa densité moyenne (0,94).

De même, le poids de la caséine étant déterminé, son volume nous a été fourni en divisant ce poids par sa densité moyenne (1,35).

Le volume total de l'insoluble : volume de la matière grasse + volume de la caséine, nous a permis de calculer le coefficient de correction par lequel nous avons dû multiplier le poids de tous les éléments du litre de lait pour les rapporter au litre de sérum.

x étant le volume total de l'insoluble, ce coefficient de correction C est donné par la formule :

$$C = \frac{1000}{1000 - x}$$

Voici, dès lors, comment nous avons procédé à nos synthèses de lacto-sérums.

Nous avons d'abord pesé le chlorure de sodium correspondant au litre de sérum. Nous l'avons introduit dans un ballon jaugé de 1 litre et avons fait sa dissolution à 20° C. dans l'eau distillée, en remplissant jusqu'au trait de jauge. La lecture réfractométrique a été faite à la même température de 20° C.

Puis, nous avons recommencé l'opération en mettant en solution, comme précédemment, le chlorure de sodium et le sulfate de sodium correspondants au litre de sérum et nous avons déterminé l'indice de la solution.

Nous avons procédé de même avec les poids correspondants de chlorure de sodium, sulfate de potassium, citrate tricalcique, et ainsi de suite, en ajoutant chaque fois un composant salin de plus dans le ballon et en notant chaque fois l'indice à 20° C.

Nous sommes arrivé, en fin de compte, en ajoutant le lactose à l'ensemble des matières salines, à avoir l'indice de réfraction total du lacto-sérum, ainsi synthétisé par fractions successives.

Nous relevons dans les tableaux suivants les résultats de nos recherches portant sur dix échantillons de laits de mélange.

Dans chacun de ces tableaux, les poids en grammes par litre des matières salines et du lactose ont été obtenus en multipliant par le coefficient de correction propre à chaque lait les poids de ces matières indiqués au Tableau III et résultant des expériences de Ch. PORCHER et A. CHEVALLIER.

LAIT N° 1

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_0 = 1,3418$		
<i>Recherches analytiques</i>		
Densité à 15°C	1,0331	
Extrait calculé	120,2	
Matière grasse	29	
Extrait dégraissé	91,2	
Caséine	34,2	
Acidité lactique	1,26	
Lactose hydraté	47,7	
Chlorure de sodium.....	1,64	
Coefficient de correction.....	1,0595	
<i>Synthèse du lacto-sérum N° 1</i>		
Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,737	1,3333
Sulfate de potassium	0,159	1,3334
Citrate tri-calcique	1,907	1,3337
— tri-potassique	0,794	1,3338
— tri-magnésien	0,741	1,3339
Phosphate mono-potassique	1,059	1,3340
— bi-potassique	1,165	1,3342
Bicarbonate de sodium	0,265	1,3343
Urée (azote non protéique)	0,530	1,3344
Lactose hydraté	50,538	1,3416

LAIT N° 2

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_0 = 1,3415$

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0326
Extrait calculé	120,1
Matière grasse	30,0
Extrait dégraissé	90,6
Caséine	34,5
Acidité lactique	1,35
Lactose hydrate	46,2
Chlorure de sodium.....	1,69
Coefficient de correction.....	1,061

Synthèse du lacto-sérum N° 2

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,793	1,3334
Sulfate de potassium	0,159	1,3335
Citrate tri-calciq.	1,910	1,3338
— tri-potassique	0,796	1,3339
— tri-magnésien	0,743	1,3340
Phosphate mono-potassique	1,061	1,3342
— bi-potassique	1,167	1,3343
Bicarbonate de sodium	0,265	1,3344
Urée (azote non protéique)	0,530	1,3345
Lactose hydraté	49,018	1,3414

LACT N° 3

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) N° = 1,3418

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0332
Extrait calculé	116,9
Matière grasse	26,0
Extrait dégraissé	90,9
Caséine	32,0
Acidité lactique	1,4
Lactose hydraté	48,8
Chlorure de sodium.....	1,52
Coefficient de correction.....	1,054

Synthèse du lacto-sérum N° 3

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,602	1,3333
Sulfate de potassium	0,158	1,3334
Citrate tri-calciq.	1,897	1,3337
— tri-potassique	0,790	1,3338
— tri-magnésien	0,738	1,3339
Phosphate mono-potassique	1,054	1,3340
bi-potassique	1,159	1,3342
Bicarbonate de sodium	0,263	1,3343
Urée (azote non protéique)	0,527	1,3344
Lactose hydraté	51,435	1,3417

LAIT N° 4

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_0 = 1,3420$

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,033
Extrait calculé	114,0
Matière grasse	24,0
Extrait dégraissé	90,0
Caséine	31,1
Acidité lactique	1,4
Lactose hydraté	49,4
Chlorure de sodium.....	1,66
Coefficient de correction.....	1,051

Synthèse du lacto-sérum N° 4

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,744	1,3334
Sulfate de potassium	0,157	1,3335
Citrate tri calcique	1,891	1,3333
— tri-potasique	0,788	1,3339
— tri-magnésien	0,736	1,3340
Phosphate mono-potassique	1,051	1,3341
— bi-potassique	1,156	1,3342
Bicarbonate de sodium	0,263	1,3343
Urée (azote non protéique)	0,525	1,3344
Lactose hydraté	51,919	1,3419

LAIT N° 5

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_o = 1,3418$

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0331
Extrait calculé	111,8
Matière grasse	22,0
Extrait dégraissé	89,8
Caséine	32,3
Acidité lactique	1,26
Lactose hydraté	48,5
Chlorure de sodium	1,67
Coefficient de correction	1,050

Synthèse du lacto-sérum N° 5

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,753	1,3334
Sulfate de potassium	0,157	1,3335
Citrate tri-calciq.	1,890	1,3338
— tri-potassique	0,787	1,3339
— tri-magnésien	0,735	1,3340
Phosphate mono-potassique	1,050	1,3341
— bi-potassique	1,155	1,3342
Bicarbonate de sodium	0,262	1,3343
Urée (azote non protéique)	0,525	1,3344
Lactose hydraté	50,925	1,3417

LAIT N° 6

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_0 = 1,3422$

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0334
Extrait calculé	131,5
Matière grasse	40,0
Extrait dégraissé	91,5
Caséine	33,3
Acidité lactique	1,2
Lactose hydraté	48,8
Chlorure de sodium.....	1,8
Coefficient de correction.....	1,072

Synthèse du lacto-sérum N° 6

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,929	1,3334
Sulfate de potassium	0,161	1,3335
Citrate tri-calciq.	1,929	1,3339
— tri-potassique	0,804	1,3340
— tri-magnésien	0,750	1,3341
Phosphate mono-potassique	1,072	1,3343
— bi-potassique	1,179	1,3344
Bicarbonate de sodium	0,268	1,3345
Urée (azote non protéique)	0,536	1,3346
Lactose hydraté	52,313	1,3422

LAIT N° 7

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) N° = 1,3420

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0352
Extrait calculé	129,0
Matière grasse	32,0
Extrait dégraissé	97,0
Caséine	39,9
Acidité lactique	1,45
Lactose hydraté	48,2
Chlorure de sodium	1,46
Coefficient de correction	1,068

Synthèse du lacto-sérum N° 7

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,559	1,3333
Sulfate de potassium	0,160	1,3334
Citrate tri-calcique	1,922	1,3338
— tri-potassique	0,801	1,3339
— tri-magnésien	0,747	1,3340
Phosphate mono-potassique	1,068	1,3342
— bi-potassique	1,175	1,3343
Bicarbonate de sodium	0,267	1,3344
Urée (azote non protéique)	0,534	1,3345
Lactose hydraté	51,477	1,3419

LAIT N° 8

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_0 = 1,3418$

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0326
Extrait calculé	110,5
Matière grasse	22,0
Extrait dégraissé	88,5
Caséine	31,1
Acidité lactique	1,17
Lactose hydraté	48,4
Chlorure de sodium	1,75
Coefficient de correction	1,048

Synthèse du lacto-sérum N° 8

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,834	1,3334
Sulfate de potassium	0,157	1,3335
Citrate tri-calciq.	1,886	1,3338
— tri-potassique	0,786	1,3339
— tri-magnésien	0,734	1,3340
Phosphate mono-potassique	1,048	1,3341
— bi-potassique	1,153	1,3342
Bicarbonate de sodium	0,262	1,3343
Urée (azote non protéique)	0,524	1,3344
Lactose hydraté	50,723	1,3416

LAIT N° 9

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_o = 1,3415$

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0329
Extrait calculé	110,7
Matière grasse	21,5
Extrait dégraissé	89,2
Caséine	32,2
Acidité lactique	1,3
Lactose hydraté	48,0
Chlorure de sodium.....	1,78
Coefficient de correction.....	1,049

Synthèse du lacto-sérum N° 9

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,867	1,3334
Sulfate de potassium	0,157	1,3335
Citrate tri-calcique	1,888	1,3338
— tri-potassique	0,787	1,3339
— tri-magnésien	0,734	1,3340
Phosphate mono-potassique	1,049	1,3341
— bi-potassique	1,154	1,3342
Bicarbonate de sodium	0,262	1,3343
Urée (azote non protéique)	0,524	1,3344
Lactose hydraté	50,352	1,3415

LAIT N° 10

Lacto-sérum d'ultrafiltration ($t = 20^{\circ} \text{C}$) $N_0 = 1,3420$

Recherches analytiques

Densité à 15°C	1,0342
Extrait calculé	131,8
Matière grasse	36,5
Extrait dégraissé	95,3
Caséine	37,9
Acidité lactique	1,45
Lactose hydraté	48,4
Chlorure de sodium	1,4
Coefficient de correction	1,072

Synthèse du lacto-sérum N° 10

Matières en solution	Poids en grammes par litre	Indice de réfraction à 20°C
Chlorure de sodium	1,501	1,3333
Sulfate de potassium	0,161	1,3334
Citrate tri-calcique	1,930	1,3338
— tri-potassique	0,804	1 3339
— tri-magnésien	0,750	1,3340
Phosphate mono-potassique	1,072	1,3341
— bi-potassique	1,179	1,3343
Bicarbonate de sodium	0,268	1,3344
Urée (azote non protéique)	0,536	1,3345
Lactose hydraté	51,885	1,3420

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX DE LA SYNTHÈSE DES LACTO-SÉRUMS

1° Matières salines : Dans leur ensemble, les matières salines mises successivement en solution, ont augmenté l'indice de l'eau distillée dans des limites variant entre 0,0014 et 0,0016

(moyenne : 0,00145)

Le chlorure de sodium a fait varier l'indice de 0,0003 à 0,0004

(moyenne : 0,00036)

Le sulfate de potassium : de 0,0001 ;

Le citrate tri-calcaïque : de 0,0003 à 0,0004 (moyenne : 0,00033) ;

Le citrate tri-potassique : de 0,0001 ;

Le citrate tri-magnésien : de 0,0001.

Les citrates dans leur ensemble, ont apporté à l'indice une augmentation variant de 0,0005 à 0,0006 (moyenne : 0,00053).

Le phosphate mono-potassique a fait varier l'indice de 0,0001 à 0,0002 (moyenne : 0,00012).

Le phosphate bi-potassique : de 0,0001 à 0,0002 (moyenne : 0,00014).

Les phosphates, dans leur ensemble, ont augmenté l'indice de 0,0002 à 0,0003 (moyenne : 0,00026).

Le bicarbonate de sodium a fourni une augmentation de 0,0001 ; il en a été de même pour l'urée.

2° Lactose : Suivant les laits envisagés, l'augmentation apportée à l'indice de réfraction par le lactose a varié entre 0,0069 et 0,0076 (moyenne : 0,0073).

Tous ces résultats sont rassemblés en un tableau récapitulatif de la synthèse de nos lacto-sérums.

En résumé, l'indice total moyen de ces sérums est la somme des indices de l'eau distillée, des matières salines en solution vraie *et surtout du lactose* :

Eau distillée à 20° C	n = 1,3330
Matières salines (augmentation)	+ 0,0014
Lactose (augmentation)	+ 0,0073
Indice de réfraction moyen des sérums de synthèse.....	1,3417

Le lactose est évidemment le gros composant des matières en solution dans le lacto-sérum. Il en représente, en poids, plus des 5/6 et l'augmentation apportée par elles à l'indice de réfraction de l'eau distillée est influencé dans la même proportion (plus des 5/6) par la lactose.

Il convient de remarquer que les indices de réfraction totaux de nos sérums se classent exactement suivant la richesse en lactose des laits auxquels ils se rapportent ; *déterminer l'indice de réfraction d'un lacto-sérum, c'est donc, d'une manière indirecte, évaluer la teneur du lait en lactose, du moins avec un sérum libre d'albumines.*

Dans l'ensemble, les indices trouvés pour nos sérums de synthèse diffèrent, en moins, de 0,0001, environ, de ceux fournis par les sérums d'ultrafiltration. Cet écart reste dans la limite des erreurs d'expérience.

Nous ne saurions aspirer, au surplus, à une exactitude absolue dans les recherches synthétiques que nous avons entreprises.

Nous ne prétendons pas à une précision rigoureuse, nous espérons simplement avoir donné une image de la vérité aussi peu déformée que possible.

CHAPITRE IV

Etablissement d'une classification des lacto-sérums.

Etude critique de leur valeur pratique.

Choix d'une méthode.

Des recherches qui précèdent, nous concluons, que d'accord avec les résultats des travaux de CORNALBA, de WIEGNER et du Professeur Ch. PORCHER, le lacto-sérum idéal sera celui qui ne renfermera pas d'albumines et dont la composition et le volume se rapprocheront le plus de la phase *solution vraie* du lait qui, d'après les travaux de ces auteurs, est la plus constante des différentes phases (émulsoïde et colloïdale) de cette sécrétion.

N'oublions pas le point de vue pratique de la réfractométrie des sérums de lait : déceler le mouillage de la façon la plus sensible et la plus nette.

Pour se rapprocher de cet idéal, il faudra employer le plus petit volume possible de coagulant et utiliser une méthode qui, physiquement ou chimiquement, élimine les albumines, afin d'utiliser au maximum, pour la recherche du mouillage, la différence qui existe entre la réfraction de la phase solution vraie et celle de l'eau.

Et, pour simplifier la question, avec L. PANCHAUD, nous pourrions appeler *sensibilité* de la méthode, la différence qui existe entre la réfraction normale minimum R du sérum et celle R_0 de l'eau en volume égal à celui du lait employé pour obtenir le sérum et *contenant la même proportion de coagulant que le lait traité*.

L'influence d'un faible mouillage sera d'autant plus grande que $R - R_0$ sera plus fort.

Nous classerons les méthodes de préparation des lacto-sérums en deux catégories d'après leur mode d'obtention :

A Lacto-sérums préparés à froid.

B Lacto-sérums préparés à chaud.

A LACTO-SÉRUMS PRÉPARÉS A FROID.

1^o Sérum spontané.

(Utz-Matthes et Müller.)

Mode opératoire. On laisse le lait s'aigrir naturellement dans un flacon fermé, jusqu'à ce que la coagulation se produise. On filtre le sérum. Comme la coagulation est lente à se produire, on peut la hâter en portant le flacon au bain-marie à 35°-40° C.

Suivant la saison et le degré d'acidité de l'échantillon employé, la durée de la coagulation varie de 6 à 18 heures.

Le sérum obtenu est généralement limpide et contient en solution la lac'albumine et la lactoglobuline.

C'est un sérum à l'acide lactique formé aux dépens du lactose :



1 molécule de lactose hydraté 4 molécules d'acide lactique

Mais, en réalité, selon la nature des germes préexistants dans le lait, il se forme de l'acide lactique, en proportion plus ou moins grande, il y a également production d'acides carbonique, propionique, butyrique ; en outre l'albumine se transforme en ses sous-produits, les microbes habituels du lait arrêtant habituellement leur action au stade peptone.

Dans ces conditions, la composition du sérum spontané n'est jamais comparable d'un échantillon à l'autre.

$$\left. \begin{array}{l} R = 1,3425 - 1,3436 \text{ à } 20^{\circ} \text{ C.} \\ R_0 = 1,3330 \qquad \qquad \text{id.} \end{array} \right\} \text{ Sensibilité} = 0,0095 \text{ environ}$$

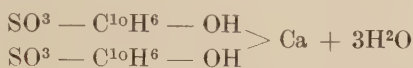
Critique : Cette méthode n'est pas à recommander, ses résultats n'étant pas contrôlables ni toujours identiques ; de plus, l'obtention du lacto-sérum est de trop longue durée.

2° Sérum à l'asoprol

(Baier et Neumann)

L'asoprol ou abrastol est une combinaison calcique du dérivé α monosulfoné du naphtol β .

C'est un naphtylsulfate de chaux de formule :



Mode opératoire : On agite 15 cm³ de lait avec 15 cm³ de solution d'asoprol (30 gr. d'asoprol et 55 gr. 8 d'acide citrique cristallisé dissout dans un litre d'eau distillée). On sépare par filtration le coagulum de caséine et de matière grasse du sérum.

Le sérum est très limpide.

La solution d'ab rastol et le sérum sont à peu près isoréfringents

$$\left. \begin{array}{l} R = 1,3419 \text{ à } 20^\circ \text{ C.} \\ R_0 = 1,3374 \text{ id.} \end{array} \right\} \text{ Sensibilité} = 0,0045 \text{ environ}$$

Critique :

Avantages : Méthode rapide, sérum très clair ;

Inconvénients : Procédé peu sensible, le lait étant dilué par le réactif dans la proportion de 100 %. De plus, la solution d'ab rastol ne se conserve pas et noircit très vite.

3° Sérum au sulfate de cuivre

(H. Lythgoe.)

Mode opératoire : 40 cm³ de lait sont traités par 10 cm³ de solution de sulfate de cuivre (72,5 gr. par litre). On agite, on laisse reposer quelques minutes et on filtre ; si le liquide passe trouble, on le verse à nouveau sur le filtre. Le sérum clair est soumis à l'examen réfractométrique.

(La solution de sulfate de cuivre doit donner à 20° C. un indice de réfraction = 1,3412.)

$$\left. \begin{array}{l} R = 1,3419 \text{ à } 20^\circ \text{ C.} \\ R_0 = 1,3348 \text{ id.} \end{array} \right\} \text{ Sensibilité} = 0,0071 \text{ environ}$$

Critique: Avantages: Préparation rapide et à froid, sérum très clair.

Inconvénients: Méthode peu sensible, le lait étant dilué par le réactif dans la proportion de 25 %.

4° Tétraserum I

(Pfyl et Turnau.)

Mode opératoire: On mélange bien, en agitant fortement, 50 cm³ de lait avec 5 cm³ de tétrachlorure de carbone, dans un flacon bien bouché; on ajoute ensuite 1 cm³ d'acide acétique à 20 %. On agite à nouveau pendant quelques minutes. On centrifuge ou on filtre.

Le tétrachlorure de carbone est pratiquement insoluble dans l'eau, il est donc sans influence sur la réfraction, il facilite la filtration en retenant dans le coagulum le maximum de graisse.

Le sérum obtenu est très clair, même lorsque le lait est fortement acide.

R à 20° C., varie entre 1,3433 — 1,3444	} Sensibilité = 0,0100
R ₀ = 1,3333	

Si le lait a été préalablement bouilli, l'indice de réfraction peut s'abaisser de 0,0003 à 0,0012 par suite de la précipitation de la lactalbumine et de la lactoglobuline. On peut donc conclure à un mouillage. Pour éliminer toutes les causes d'erreur il conviendra, dans ces cas douteux, de s'assurer que le lait n'a pas été bouilli ou additionné de lait bouilli. La réfraction du sérum, après ébullition du lait cru devant s'abaisser normalement de 0,0003 à 0,0012.

Critique: Avantages: Préparation à froid, sérum très limpide même quand le degré d'acidité du lait est élevé.

Filtration aisée.

Inconvénients: Le sérum renferme les albumines.

5° Sérum chloruromercurique

(Ambuhl et Weiss.)

Préparation du coagulant: Dans un ballon jaugé de 100 cm³, on met 125 gr. de bichlorure de mercure chimiquement pur. On ajoute, par petites quantités, jusqu'à dissolution, en chauffant sur une petite flamme,

de l'acide chlorhydrique concentré ($d = 1,184$). On refroidit à 15°C . et on complète à 100 cm^3 avec l'acide chlorhydrique concentré.

Le contrôle de la solution coagulante est fait en opérant un essai à blanc : à 30 cm^3 d'eau distillée, on ajoute $0,3 \text{ cm}^3$ de coagulant. On agite. L'indice de réfraction du mélange ainsi obtenu doit être à $17^{\circ}5 \text{ C}$., de 20 divisions du réfractomètre à immersion de Zeiss ($n = 1,3351$).

Mode opératoire : A 30 cm^3 de lait, ajouter $0,3 \text{ cm}^3$ de coagulant. Agiter vigoureusement. Filtrer. L'indice de réfraction d'un lait normal est de 1,3436.

Le sérum est très limpide, quelle que soit l'acidité du lait ; il ne renferme ni lactalbumine ni lactoglobuline.

$$\begin{array}{l} R = 1,3434 \text{ à } 20^{\circ} \text{ C.} \\ R_o = 1,3350 \text{ id.} \end{array} \left\{ \begin{array}{l} \text{Sensibilité} = 0,0084 \text{ environ} \end{array} \right.$$

D'après L. PANCHAUD, le sérum chloruromercurique des laits acides est toujours clair et sa réfraction diminue, parce que l'acide lactique formé aux dépens du lactose a une réfraction plus faible que le lactose.

Le sérum chloruromercurique contenant de l'acide chlorhydrique libre, celui-ci libère la chaux de la caséine, de sorte que l'influence de l'acide lactique qui aurait pu être partiellement salifié par de la chaux se fait directement sentir.

Le sérum chloruromercurique des laits malades est généralement clair, mais il donne un trouble par addition de réactif chloruromercurique.

Critique : Avantages : Lacto-sérum toujours très clair, sans albumines, de filtration relativement rapide. Economie de chauffage et de temps.

Inconvénients : Prix élevé du réactif. Coagulant dangereux (toxique et caustique).

B. LACTO-SÉRUMS PRÉPARÉS A CHAUD.

1^o Sérums à l'acide acétique.

Nous nous bornerons à rappeler ici à propos de ces sérums, ce que nous avons dit au cours de l'historique de la réfractométrie des lacto-sérums. Les auteurs qui ont préconisé l'emploi de l'acide acétique comme coagulant, utilisent en général une solution à 20 ou à 25 % à raison de 2 cm^3 de cette solution par 100 cm^3 de lait. La température à laquelle

est porté le mélange et la durée d'échauffement varient avec les auteurs ; si bien que, suivant les procédés employés, l'albumine coagulable reste en totalité ou disparaît en partie, apportant ainsi à l'indice de réfraction une augmentation plus ou moins forte.

Nous ne retiendrons ici que la méthode préconisée par HENSEVAL et MULLIE.

Mode opératoire : 50 cm³ de lait sont additionnés de 1 cm³ d'acide acétique à 20 %, puis chauffés au bain-marie à 65°-70° pendant 5 minutes, en ayant soin de ne pas dépasser cette dernière température ; on refroidit ensuite vers 15°, on filtre et on examine au réfractomètre :

$$\begin{array}{lcl} R & = & 1,3430 - 1,3442 \text{ à } 15^\circ \\ R_o & = & 1,3337 \end{array} \quad \left. \begin{array}{l} \\ id. \end{array} \right\} \text{Sensibilité} = 0,0093 \text{ environ}$$

Pour les auteurs un lait est mouillé lorsque à 15° C. son indice de réfraction est inférieur à 1,3425 ; il est suspect de 1,3425 à 1,3429.

L'usage simultané, sur un même lait, des tétrasérums I et II de PFYL et TURNAU nous a permis, en nous basant sur la différence entre les indices fournis par le tétrasérum I, contenant les albumines et le tétrasérum II n'en renfermant pas, de constater que l'augmentation d'indice, provoqué par les albumines, varie entre 0,0003 et 0,0012.

Le sérum de HENSEVAL et MULLIE renferme les albumines et l'indice, entre leur maximum et leur minimum peut baisser, sans pour cela qu'il y ait eu mouillage, de 0,0009.

Critique : Avantages : Nuls.

Inconvénients : Lacto-sérum trouble dans l'immense majorité des cas et d'une longueur de filtration désespérante dans tous les cas. Nous avons été souvent dans l'impossibilité de déterminer l'indice, par suite du trouble du filtrat, même en changeant le filtre à plusieurs reprises. Enfin la présence d'albumines doit faire rejeter ces sérums de la pratique courante.

2° Trétrasérum II

(Pfyl et Turnau.)

Mode opératoire : On chauffe le lait pendant 20 minutes, au bain-marie bouillant, dans un ballon muni d'un tube à reflux. Après refroidissement, on rejette dans le ballon où se trouve le lait l'eau condensée

dans le tube refroidisseur. On traite ensuite 50 cm³ de lait refroidi dans les mêmes conditions que pour la fabrication du Tétraserum I.

Le sérum est clair jusqu'à 16° S.H. d'acidité du lait¹.

Critique : Ce sérum est trop long à préparer pour être pratiquement utilisable dans la recherche du mouillage en série. Il peut servir très efficacement, par comparaison avec le Tétraserum I, à reconnaître si le lait a été chauffé ou additionné de lait bouilli.

3° Sérum chlorurocalcique

(E. Ackermann.)

Préparation de la solution coagulante : On dissout 200 gr. de chlorure de calcium fondu dans l'eau distillée de manière à obtenir 1 litre de solution. Le poids spécifique de la solution doit être de 1,1375 à 15° C. ; diluée à 1/10, elle doit donner à la température de 17°5 C. un indice de réfraction de 1,3374.

Mode opératoire : 30 cm³ de lait, contenus dans un gros tube à essais, sont additionnés de 0,25 cm³ de la solution de chlorure de calcium. On agite vivement, on munit le gros tube d'un réfrigérant et on plonge dans un bain-marie en pleine ébullition. On maintient l'ébullition vive pendant 15 minutes, puis on refroidit dans un courant d'eau froide. On mélange ensuite l'eau de condensation déposée dans les parois du tube à essais et du réfrigérant avec le reste du sérum, en retournant le tube à essais ; on décante ensuite le sérum et on détermine l'indice de réfraction à 17°5 C.

Jusqu'à 9° S.H. d'acidité du lait, le sérum est clair, il se trouble au-dessus de cette limite et à partir de 12° S.H. une filtration devient nécessaire pour pouvoir procéder à l'examen réfractométrique.

R varie entre 1,3422 et 1,3429 à 17°, 5 C.	/	Sensibilité = 0,0088
R° = 1,3336	id.	{ environ.

Critiques : Avantages : Préparation du sérum simple et rapide. Pas de filtration.

¹ Les degrés d'acidité SOXHLET-HENKEL donnent le nombre de centimètres cubes de soude 1/4 normale saturant l'acidité de 100 cm³ de lait.

Inconvénients : Avec les *laits acides*, le sérum est trouble et la réfraction s'élève de 0,0003 à 0,0008 ce qui peut dissimuler un mouillage faible.

Rappelons que pour L. Panchaud, cette élévation de l'indice de réfraction est due au *lactate de chaux*, formé par saturation de la chaux de la caséine, par l'acide lactique de fermentation et aux *peptones*, d'origine bactérienne, qui ne précipitent pas par le chlorure de calcium,

Pour les *laits malades* (mammites), qui sont alcalins, le sérum est également trouble (les albumines n'étant pas toutes précipitées par le chlorure de calcium) et la réfraction basse.

La cause du trouble d'un lacto-sérum chlorurocalcique sera vite reconnue en faisant l'essai à l'alcool-alizarine : les laits acides coagulent en jaune, les laits alcalins coagulent, ou non, en violet.

Le trouble qui se produit dans le sérum chlorurocalcique est donc toujours l'indice d'une anomalie, il est souvent un indicateur précieux, qui permet de déterminer l'origine du lait examiné.

CHOIX D'UNE MÉTHODE.

Il convient tout d'abord de remarquer que toutes les méthodes décrites précédemment impliquent une *filtration* du lacto-sérum. Seule la méthode au chlorure de calcium d'Ackermann fait exception à la règle. Le sérum, avec cette méthode, peut être examiné par simple décantation, tant est compact le coagulum formé par le chlorure de calcium.

Or, le fait de pouvoir se passer de filtration pour l'examen réfractométrique est de la plus haute importance. Dans les examens en séries, comportant jusqu'à 50 échantillons, il implique un gain de temps considérable et diminue, dans de grandes mesures, les chances d'erreur.

Notons aussi que tous les lacto-sérums préparés à froid (sauf le sérum chloruromercurique de Ambuhl et Weiss) contiennent encore *lactalbume* et *lactoglobuline*. Or, comme nous l'avons vu, ces albumines sont en proportions relativement variables dans le lait. Lorsqu'un lacto-sérum les renferme, sa réfraction perd, de ce fait, son caractère de constance qui lui confère toute sa valeur scientifique et pratique.

Seules, deux méthodes de production retiendront donc notre attention :

La méthode chlorurocalcique d'Ackermann,

La méthode chloruromercurique d'Ambuhl et Weiss.

Nous n'hésitons pas à donner la préférence à la méthode chlorurocalcique. Elle a donné lieu, depuis 1907, à un nombre si considérable d'essais et à une étude tellement approfondie, qu'on peut dire qu'elle est la mieux connue. Le procédé d'Ackermann a fait ses preuves et est employé, sur une grande échelle, dans les laboratoires allemands et suisses où il donne entière satisfaction.

Grâce aux travaux de G. Wiegner et Ackermann, il est facile, connaissant l'indice de réfraction du sérum chlorurocalcique, d'en déduire le poids spécifique de ce sérum et de calculer le résidu sec maigre du lait examiné, toutes applications de la méthode dont il convient d'apprécier la portée pratique.

Dans les cas exceptionnels où les laits auraient un degré d'acidité trop élevé et donneraient, même après filtration du sérum chlorurocalcique, un trouble trop considérable pour pouvoir être examinés au réfractomètre, il conviendrait d'employer, avec ces laits, la méthode chloruromercurique qui donne un sérum clair, quel que soit le degré d'acidité des laits.

Les deux méthodes, loin de s'exclure, peuvent donc s'employer de front dans ces cas bien définis.

Influence des substances conservatrices ajoutées au lait sur l'indice de réfraction des lacto-sérums chlorurocalciques

Il arrive souvent que les échantillons de lait prélevés en vue de la recherche des fraudes ne sont pas soumis immédiatement à l'examen du laboratoire. Dans ces conditions, il est de règle d'ajouter au lait une substance conservatrice. La plus employée est le bichromate de potassium.

Il résulte des recherches de E. MOLLENHAUER que l'addition à 100 cm³ de lait d'un centimètre cube de solution de bichromate de potassium, ayant un poids spécifique de 1,3 (soit à peu près celui du lait) est sans influence sur l'indice de réfraction. Le fait d'ajouter cette substance au lait permet sa conservation pendant un minimum de 48 heures. 1 décigramme d'aldéhyde formique, ajouté à 100 cm³ de lait, ne modifie pas la réfraction de son sérum chlorurocalcique et permet la conservation de l'échantillon en attendant son examen réfractométrique.

CHAPITRE V

Utilisation de la réfractométrie pour la recherche rapide du mouillage.

Puisque nous avons fait choix de la méthode d'Ackermann au chlorure de calcium, nous allons voir dans quelle mesure ce procédé est susceptible de rendre des services dans la recherche rapide, en série, du mouillage des laits.

Rappelons tout d'abord que l'indice de réfraction du sérum est complètement indépendant de la teneur du lait en matière grasse, ainsi qu'il résulte des expériences de MAI et ROTHENFUSSER. Un défaut de brassage du lait, au moment du prélèvement, n'empêchera, donc pas la recherche réfractométrique du mouillage.

Pour le démontrer, Mai et Rothenfusser introduisent deux litres de lait dans un récipient muni d'un robinet à sa partie supérieure.

Ils abandonnent le lait au repos pendant quelques heures et soutirent ensuite un litre par le robinet :

	Réfraction	Matière grasse
Lait primitif.....	1,3426	4,1 %
Lait (portion inférieure)	1,3426	3,5 %
Lait (portion supérieure)	1,3426	9,5 %

Deux laits de traite (matin et soir) donnent le même indice de réfraction.

La réfraction reste constante, même si l'on observe des variations dans le chiffre résidu sec maigre.

La traite incomplète, qui influe sur la quantité de matière grasse, est sans action sur la réfraction.

Le changement de nourriture, qui cause des variations dans la teneur en graisse, n'a qu'une influence minime sur la réfraction.

Les laits des vaches fraîchement vélées ne se distinguent pas des laits normaux, quant à la réfraction ; la lactation n'a pas d'influence importante.

Comme nous l'avons vu, Ackermann donne pour les laits normaux non falsifiés, des indices de lacto-sérum compris entre 1,3422 et 1,3429 à 17°5.

Il sera facile à un expert, appelé à travailler journellement sur les laits de sa région, d'établir des chiffres limites pour l'indice des lacto-sérums chlorurocalciques.

Nous ne pouvons mieux faire que de rappeler ici, à ce propos, les remarques de Mai et Rothenfusser :

« Pour le lait, encore moins que pour les autres produits naturels, on ne peut fixer des chiffres limites absolus. A cette occasion, nous devons dire que nous tenons la fixation d'un minimum, quant à la teneur en graisse du lait, pour une absurdité.

« On ne doit jamais comparer les laits à un lait normal, mais bien à un lait moyen de composition fixée par une longue expérience dans la même contrée. Dans ces conditions seulement, les chiffres limites ont leur raison d'être.

« L'expert doit voir dans chaque échantillon de lait qui lui est soumis une véritable personnalité, qu'il doit juger pour elle-même en la comparant avec des types analogues et en tenant compte de toutes les circonstances dans lesquelles il a été prélevé.

« De tous les chiffres analytiques, c'est la réfraction qui varie le moins, même après des périodes assez longues. C'est cette constance de la réfraction qui donne une grande valeur à la méthode. »

Dans les cas de réfraction basse, il sera bon de procéder à une contre-épreuve à l'étable ou au lieu de ramassage des laits pour se faire une opinion, car juger un lait sans contre-épreuve est une opération risquée, pour de faibles mouillages (jusqu'à 5 %), tout au moins.

La méthode réfractométrique n'a de valeur que pour les laits de mélange, elle est souvent en défaut quand il s'agit de laits individuels dont la composition est soumise à de grandes variations.

Pour calculer la proportion d'eau ajoutée au lait, on peut utiliser avec avantage des tables analogues à celle que nous reproduisons, d'après MAI et ROTHENFUSSER ; on la détermine par rapport à la norme 39 (1,3424) de réfraction.

Lorsque les contre-épreuves donnent des réfractions différentes de 1,3424, on peut calculer les valeurs correspondantes par interpolation.

TABLE POUR LE CALCUL DU MOUILLAGE (Sérum chlorurocalcique)
établie pour la norme 39 R. Z. ($n_d = 1,3424$)
(d'après MAI & ROTHENFUSSE)

Divisions réfractom. Zeiss	n_d	°/° d'eau	Divisions réfractom. Zeiss	n_d	°/° d'eau	Divisions réfractom. Zeiss	n_d	°/° d'eau
37,9	1,3419	4	34,8	1,34078	20	32,5	1,33991	36
37,7	1,34187	5	34,6	1,3407	21	32,4	1,3398	37
37,5	1,3418	6	34,4	1,3406	22	32,2	1,33979	38
37,3	1,3417	7	34,3	1,34059	23	32,1	1,33975	39
37,1	1,3416	8	34,2	1,3405	24	32	1,33972	40
36,9	1,34158	9	34	1,34048	25	31,9	1,33968	41
36,7	1,3415	10	33,9	1,34044	26	31,8	1,33964	42
36,5	1,3414	11	33,7	1,34036	27	31,6	1,33956	43
36,3	1,3413	12	33,6	1,34032	28	31,5	1,33953	44
36,1	1,34127	13	33,4	1,34025	29	31,4	1,33949	45
35,9	1,3412	14	33,3	1,34021	30	31,3	1,33945	46
35,7	1,3411	15	33,2	1,34017	31	31,2	1,3394	47
35,5	1,34105	16	33	1,3401	32	31,1	1,33937	48
35,3	1,3409	17	32,9	1,3400	33	31	1,33934	49
35,1	1,34089	18	32,7	1,33998	34	30,9	1,3393	50
35	1,3408	19	32,6	1,33994	35			

Le procédé chlorurocalcique permet à un praticien habile de préparer en deux heures 50 sérums et de déterminer leur indice de réfraction, à condition d'employer la cuve d'Ackermann avec son support pour éprouvettes et le réfractomètre à immersion de Zeiss.

Le procédé est donc rapide. Est-il suffisant à lui seul pour faire la preuve du mouillage des laits ? Nous sommes obligé de convenir que *la méthode ne se suffit pas à elle-même* et que, dans aucun cas, elle ne permet d'affirmer le mouillage, quand il s'agit de l'établir formellement. Pas plus que les autres méthodes physiques : cryoscopie, viscosimétrie, mesure de la résistivité électrique, la détermination de l'indice de réfraction ne permet de se dispenser de l'analyse.

Dans les cas de doute, si aucune contre-épreuve n'est possible, on

pourra déterminer, parallèlement à l'indice de réfraction, le point de congélation du lait ou sa constante moléculaire simplifiée (C.M.S.).

Avec une réfraction basse, une C.M.S. normale et un point de congélation normal, on aura affaire à un lait non mouillé ; au contraire, avec une réfraction basse, une C.M.S. basse et un point de congélation élevé, on pourra conclure formellement au mouillage du lait.

Les méthodes réfractométriques sont donc d'excellentes méthodes de triage. Elles permettent, dans un laps de temps très restreint, de contrôler un grand nombre d'échantillons de lait et par conséquent de dépister la fraude avec une singulière facilité.

Quand un échantillon de lait a un indice de réfraction supérieur au chiffre limite admis pour la méthode utilisée et pour la région où l'on opère, il n'est pas mouillé. L'indice de réfraction et la matière grasse du lait donnent une image suffisante de cette sécrétion pour permettre de supprimer la détermination de la densité et le calcul du résidu sec maigre, d'où, pour les laboratoires, un gain de temps très appréciable.

Enfin, rappelons qu'avec le sérum chlorurocalcique, pour ceux qui ne disposent pas d'un réfractomètre, il est possible de se contenter de la détermination de la densité ou du résidu sec du sérum, des tables fournissant l'équivalence entre la réfraction, la densité et le résidu sec.

Lorsqu'il s'agit de laits frais, normaux, on peut déduire de la réfraction du sérum chlorurocalcique : le lactose, les cendres et même les protéiques globaux du lait. Cette opération revient à exprimer la réfraction du lacto-sérum, en unités de ces différents éléments, en se basant, bien entendu, sur la composition normale type du sérum d'un lait de composition moyenne et de remplir ainsi facilement les colonnes d'un bulletin d'analyse. Ces déductions sont fausses pour les laits anormaux, aigres, très gras et malades¹. Enfin, dans les cas où le mouillage est soupçonné, le sérum chlorurocalcique peut être utilisé pour la recherche des *nitrites*.

Les méthodes réfractométriques ont reçu une consécration officielle en Allemagne et en Suisse où elles sont employées, d'une façon courante, à la grande satisfaction des laboratoires qui les utilisent.

Il serait à souhaiter qu'elles fussent introduites dans nos laboratoires de contrôle des denrées alimentaires, où la rapidité de leur exécution

¹ D'après L. PANCHAUD.

rendrait possible l'examen quotidien d'un plus grand nombre d'échantillons de lait et permettrait ainsi de poursuivre les fraudeurs avec une rigueur qu'il ne connaissent pas jusqu'à présent.

On est étonné, en effet, de constater le nombre vraiment insuffisant des prélèvements de laits faits en vue de la recherche des fraudes.

Dans le Département de la Côte-d'Or, pendant l'année 1927, il a été prélevé seulement 303 échantillons de lait et sur ce nombre 52 échantillons ont été reconnus falsifiés, soit une moyenne de 17,16 %, ayant entraîné 20 condamnations devant les tribunaux.

Ces chiffres ont leur éloquence. Ils montrent que la Loi du 1^{er} août 1905 sur la répression des fraudes est pratiquement inopérante, puisque les fraudeurs ont la certitude presque absolue de demeurer impunis. Une méthode de tirage rapide des laits, comme la réfractométrie, serait appelée, croyons-nous, à permettre de multiplier très largement le nombre de prélèvements de lait et cela sans grever le budget des laboratoires.

APPENDICE

RÉFRACTOMÈTRES.

Pour faire nos mesures d'indices sur les lacto-sérums d'ultra-filtration que nous obtenions en faible quantité, nous avons employé le *réfractomètre de Abbe* (Zeiss à Iéna). Cet appareil nous permettait en effet d'opérer sur une goutte de liquide. Il est d'un maniement facile, encore que la détermination de la quatrième décimale de l'indice se fasse à l'estime.

Pour nos synthèses de lacto-sérums et nos recherches sur les différents lacto-sérums, nous avons utilisé le *réfractomètre de Ch. FERY*. Pour la pratique courante des laboratoires de recherches sur le lait, nous conseillons l'emploi du *réfractomètre à immersion de ZEISS*. Cet appareil est d'une grande précision, d'un maniement simple et rapide et d'un nettoyage facile ; il permet d'opérer sur plusieurs échantillons de sérums, contenus dans de petits béchers et maintenus à la même température dans une cuve d'eau à chauffage constant.

Dans la pratique, les lectures de l'échelle oculaire remplacent complètement les indices. Une table permet de transformer ces déviations empiriques en indices de réfraction (nous avons opéré toutes ces transformations au cours de notre travail).

D'après SIDERSKY¹, la méthode d'immersion présente deux avantages : 1^o elle permet de déterminer la réfraction d'un liquide aussi simplement qu'on mesure sa température au moyen du thermomètre. 2^o Le procédé donne une limite bien plus nette que celui utilisant une couche de liquide emprisonnée entre deux prismes, ce qui permet d'augmenter le grossissement de la lunette d'observation et d'atteindre ainsi une plus haute précision.

Ce réfractomètre, très employé en Allemagne et en Suisse, serait à introduire en France pour l'examen des sérums du lait. Nous l'avons manipulé au Laboratoire Cantonal de Genève, où M. le Dr PANCHAUD, qui l'utilise journellement depuis de nombreuses années, nous en a recommandé chaudement l'usage.

¹ D. SIDERSKY : *La réfractométrie et ses applications pratiques*. Gauthier-Villars, Editeurs, Paris.

CONCLUSIONS

De notre « CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA RÉFRACTOMÉTRIE DES LACTO-SÉRUMS, » nous nous croyons autorisé à tirer les conclusions suivantes :

1° Le lacto-sérum idéal sera celui qui ne renfermera pas de substances protéiques et dont le volume et la composition se rapprocheront le plus de la phase cristalloïde du lait, que les travaux de CORNALBA, WIEGNER et Ch. PORCHER ont montré être la plus constante des différentes phases — émuloïde et colloïdale — de cette liqueur.

2° Nous avons obtenu ce lacto-sérum idéal par ultrafiltration du lait.

3° Par la méthode graphique — qui permet de faire abstraction de l'augmentation apportée à l'indice de réfraction par le coagulant employé — nous avons retrouvé l'indice absolu N_0 du lacto-sérum ultrafiltré pour les sérums chlorurocalcique et chloruromercurique, libres tous deux de substances protéiques.

4° L'obtention du lacto-sérum d'ultrafiltration étant très longue, son utilisation ne saurait être recommandée dans la pratique courante.

Son étude nous a permis de constater que pour des laits de mélange de la région de Dijon, son indice de réfraction, N_0 varie de 1,3415 à 1,3424 ($t = 20^\circ \text{C.}$).

5° Des résultats de la synthèse de dix échantillons du lacto-sérum d'ultrafiltration, basée sur les travaux de Ch. PORCHER et CHEVALLIER, et faite après l'analyse des laits expérimentés, nous avons pu déduire la moyenne suivante, quant aux augmentations que chacun de ses composants apporte à l'indice de réfraction :

L'ensemble des matières salines augmente l'indice de réfraction de l'eau distillée ($n = 1,3330$) de 0,0014 environ.

Le lactose augmente l'indice (eau distillée + matières salines) de 0,0073 environ.

Parmi les matières salines, celles qui ont le plus d'influence sur la réfraction du lacto-sérum sont, par ordre de grandeur décroissante : les

citrates, le chlorure de sodium, les phosphates et en dernier lieu le bicarbonate de sodium, le sulfate de potassium et l'urée.

Le lactose joue le rôle principal dans l'augmentation apportée à l'indice (plus des 5/6).

Nous concluons donc que déterminer l'indice de réfraction d'un lacto-sérum c'est évaluer, en quelque sorte, la teneur du lait en lactose.

6° De l'étude comparative des divers modes de production des lacto-sérums, il résulte que seules les méthodes donnant des sérums libres d'albumines sont à retenir.

Le meilleur procédé sera celui qui remplira le mieux les conditions suivantes :

- a) Précipiter toute l'albumine du lait ;
- b) Employer un coagulant qui augmente le moins possible l'indice de réfraction du sérum ;
- c) Diluer le lait au minimum par le volume utilisé de solution coagulante ;
- d) Avoir une sensibilité maximum pour la recherche du mouillage.

7° Parmi les procédés de préparation des lacto-sérums nous avons retenu, comme devant être utilisée dans la pratique courante, la méthode d'ACKERMANN, au chlorure de calcium.

Ce procédé est rapide, peu coûteux et le sérum, libre d'albumines, peut être examiné au réfractomètre par simple décantation, ce qui implique un gain de temps considérable.

L'indice du sérum chlorurocalcique se rapproche beaucoup de celui du sérum d'ultrafiltration, il ne le dépasse que de 0,0003.

8° Pour les laits acides, qui donnent des sérums troubles avec la méthode d'ACKERMANN, on peut utiliser avec profit la méthode chloruro-mercurique de AMBUHL et WEISS qui fournit des sérums clairs, quel que soit le degré d'acidité du lait, et dont la sensibilité, en ce qui concerne la recherche du mouillage, est du même ordre de grandeur que celle du sérum chlorurocalcique.

9° L'appareil de choix pour l'examen réfractométrique des lacto-sérums est le réfractomètre à immersion de Zeiss. Il est d'une grande précision, d'un maniement simple et rapide et son nettoyage est aisé ; enfin, il permet, grâce à la disposition de la cuve qui lui est annexée,

d'opérer simultanément sur un grand nombre de sérums maintenus à la même température.

10° La réfractométrie est une méthode sûre et rapide de triage des laits. *Elle n'a de valeur que pour les laits de mélange*, la composition des laits individuels étant soumise à de trop larges variations.

Dans tous les cas où l'indice de réfraction d'un lacto-sérum est inférieur au chiffre limite adopté pour la région où l'on opère, la méthode réfractométrique doit être étayée par une contre-épreuve à l'étable qui lèvera tous les doutes.

Dans le cas où cette contre-épreuve ne pourrait être faite, les résultats de l'examen réfractométrique seront comparés aux données fournies par la cryoscopie ou par la C.M.S.

11° Nous souhaitons que le procédé réfractométrique — qui depuis de longues années a acquis droit de cité en Allemagne et en Suisse — soit adopté en France.

Il permettrait, croyons-nous, par la rapidité de son exécution, de multiplier le nombre véritablement insuffisant des prélèvements de lait faits en vue de la recherche des fraudes et contribuerait ainsi à rendre véritablement opérant, en ce qui concerne le lait et les produits de laiterie, le Décret du 25 mars 1924 portant règlement d'Administration publique pour l'application de la loi du 1^{er} août 1905 sur la répression des fraudes.

Vu :

*Le Directeur
de l'Ecole vétérinaire de Lyon,*
CH. PORCHER.

*Le Professeur
de l'Ecole Vétérinaire,*
CH. PORCHER.

Le Président de la Thèse,
D^r ALBERT MOREL.

Vu :

Le Doyen,
JEAN LÉPINE.

Vu et permis d'imprimer :
LYON, le 5 janvier 1929.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,
J. GHEUSI.

BIBLIOGRAPHIE

ABRÉVIATIONS

- Leb. u. Hyg. = Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene.
Nahr. u. Genuss. = Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel.

- ACKERMANN (E.). — « Mitteilung über den refraktometrischen Nachweis des Wasserzusatzes zur Milch. » (*Nahr. u. Genuss*, XIII (4), 186, 188 (1907).
« Beitrag zur Untersuchung der Milch. » (*Leb. u. Hyg.*, I(5), 263, 270 (1910).
AMBUHL (G.) et WEISS (H.). — *Mitteilungen aus dem Gebiete der Nahrungsmitteluntersuchung*, X, 53 (1919).
BAIER (E.) et NEUMANN (P.). — « Die refraktometrische Untersuchung von Milchsaure in ihrer Verwendbarkeit in der Nahrungsmittelkontrolle. » (*Nahr. u. Genuss*, XIII, 369 (1907).
BASSET (C.). — « Contribution à l'étude des méthodes physiques d'examen du lait. » (*Thèse de pharmacie, Bordeaux* (1905).
BRAUN (R.). — « Die Bestimmung des Milchzuckers mit dem Wollny'schen Milchrefraktometer in Vergleich zu den analytischen und polymetrischen Bestimmungsmethoden. » (*Milch Zeitung*, XXX (1901).
BURR (A.), BERBERICH (F. M.) et LAUTERWALD. — « Untersuchungen über Milchserum. » (*Molkerei Zeitung*, XXII, 15, 16 (1908).
CALMETTE, NÈGRE et BOQUET. — *Manuel technique de Microbiologie et de Sérologie*. (Masson, Edit., 1925, p. 176.)
CORNALBA (G.). — « Une constante chimique du lait comme critérium nouveau plus sûr et plus précis pour l'appréciation de la pureté du lait. » (*Revue Générale du Lait*, VII, n° 2 et suivants (1908).
COTHEREAU (A.). — « Recherche du mouillage dans le lait par le réfractomètre. » (*Bulletin Soc. Chim. Paris*, 3^e Série, XXXIII, 234, 236 (1905).
DIETZSCH. — *Chemische Zeitung*, VIII, 323 (1884).
DUCLAUX (J.). — *Les Colloïdes* (Gauthier-Villars et Cie, éditeurs, Paris, 1920.)
DUCROS (P.) et IMBERT (H.). — « Sur les constantes physiques du lait. » (*Bull. Sciences Pharmacol.*, VII, 65 (1905).
« Détermination comparative du mouillage des laits par la cryoscopie et la réfractométrie. » (*Bull. Sciences Pharmacol.*, Septembre 1905.)

- ERTEL (F.). — « Beobachtungen über die Ripper'sche Methode zur Erkennung der Milch von kranken Kühen. » (*Oester. Molk. Zeit.*, XI, 1, 1904.)
- FENDLER (G.), BORKEL (C.) et REIDEMEISTER (W.). — « Ein Beitrag zur Refraktometrie des Chlorcalciumserums der Milch. » (*Nahr. u. Genuss.*, XX, 156, 169, 1910.)
- HENSEVAL (D^r) et MULLIE (G.). — « La réfractométrie du lait. » (*Revue Générale du Lait*, 529, 538, Septembre 1905.)
- HOPPE-SEYLER. — « Untersuchungen über die Bestandtheile der Milch. » (*Virchows Archiv*, XVII, 1859.)
- JÖRGENSEN (A.). — « Über die Verfälschung der Milch und die Nachweisung derselben mittels des Refraktometers. » (*Landw. Jahrb.*, XI, 699, 708, 1882.)
- LAM (A.). — *Chem. Zeitg.*, XXVII, 280 (1903.)
- LATAIX (A.). — « Contribution à la comparaison de divers modes de préparation des sérums de lait pour la réfractométrie. » (*VII^e Congrès International de Laiterie, Paris*, 1926.)
- LEACH (A.). — *Rep. Food and Drug, Inspect. Massachusetts*, XXXIX, 1906.
- LEACH (A.) et LYTHGOE (H.). — *Journal of American Chemical Society*, XXVI, 1195, 1904.
- LUHRIG (H.) et KRESZNER (L.). — « Weitere Beiträge zur Untersuchung und Beurteilung der Milch. » (*Molkerei Zeitung*, XXIX, 3, 12, 1911.)
- LYTHGOE (H.). — *Rep. Food and Drug Inspect. Massachusetts* (37, 38, 1908.)
- MAI (C.) et ROTHENFUSSER (S.). — « Über den Nachweis von Wasserzusatz zur Milch auf refraktometrischem Wege. » (*Nahr. u. Genuss.*, XVI (1-2), 7, 19, 1908.)
- « Beiträge zur Kenntniss der Lichtbrechung des Chlorcalciumserums der Milch. » (*Nahr. u. Genuss.*, XVIII (12), 737, 763, 1909.)
- « Zur Refraktometrie des Chlorcalciumserums der Milch einzelner Kühe. » (*Nahr. u. Genuss.*, XXI (1), 23, 37, 1911.)
- MATTHES et MULLER. — « Über die Untersuchung der Milch-Serums mit dem Zeiss'schen Eintauch-Refraktometer. » (*Zeitschrift für öffentliche Chemie*, X, 173, 1903.)
- MANSFELD. — *Nahr. u. Genuss.*, 17, 1897. — *Oesterr. Chem. Ztg.*, VIII, 546, 1905.
- MAYRHOFER. — « Beiträge zur Ripperschen Methode zur Erkennung der Milch kranker Tiere. » (*Oesterr. Molker. Zeitung*, Wien, I, 1904.)
- METZGER (O.), FUCHS (K.) et JESSER (H.). — « Beiträge zur Kenntniss der Einzelkuhmilch. » (*Nahr. u. Genuss.*, XIX (12), 720, 747, 1910.)
- MOLLENHAUER (E.). — « Studien über das aus Milch hergestellte Chlorocalciumserum und über Gefrierpunktsbestimmungen der Milch. » (*Inaugural Dissertation Königsberg i. Pr.*, 1914.)
- PANCHAUD (L.) et M^{lle} AUERBACH (E.). — « Sur le dosage réfractométrique du sucre de lait. » (*Leb. u. Hyg.*, IX (5), 236, 239, 1918.)
- PANCHAUD (L.). — « Etude sur les sérums chloromercurique et chlorocalcique du lait. » (*Leb. u. Hyg.*, XXII (1), 26, 35, 1921.)
- « Sur l'augmentation anormale de l'indice de réfraction du sérum chlorocalcique des laits aigris. » (*Le Lait*, V, 777, 782, 1925.)

- PORCHER (Ch.). — « Le lait au point de vue physico-chimique. Sa constitution colloïdale. » (*VII^e Congrès International de Laiterie, Paris, 1926.*)
- PORCHER (Ch.) et CHEVALLIER (A.). — « La répartition des matières salines dans le lait. Leurs relations physiques et chimiques avec les autres principes du lait. » (*Le Lait, 3^e année, n° 2, 3, 4.*)
- PFFYL (B) et TURNAU (R.). « Über verbesserte Herstellung von Milchseren und ihre Anwendbarkeit zur Untersuchung der Milch. » (*Berlin, Chem Laboratorium des Kais. Gesundheitsamtes, Februar 1912.*)
- RIEVEL. — « Refraktometrische Untersuchungen von Milch und Fleisch. » (*Deutsch. Tierärztl. Woch., n° 12, 1905.*)
- RIPPER — « Eine rasche Methode zur Erkennung der Milch von kranken Tieren » (*Milch. Zeitg., XXXII, 1903.*)
- SCHNORF (C.). — « Physikalisch-chemische Untersuchungen physiologischer und pathologischer Kuhmilch. (*Inaugural Dissertation, Zürich. 1904.*)
- SIDERSKY (D.). — *La réfractométrie et ses applications pratiques* (Gauthier-Villars-Masson, éditeurs, Paris.)
- UTZ (F) — « Beiträge zur Milchuntersuchung mittels Refraktometer. » (*Oesterr. Chem Zeitg, n° 22, 1901.*)
 Oesterr Chem. Zeitg., IV, 509, 1901.
 Milchw. Zentralbl., I, 209, 1905.
 Molk. Zeitg., XVI, 109, 123, 1906.
 Allgem. Chem. Ztg., VII, 525, 1907.
- VALENTIN (G.). — « Ein Beitrag zur Kenntnis der Brechungsverhältnisse der Tiergewebe. » (*Arch. ges. Physiol., XIX, 78, 105, Vergl. 102, 1879.*)
- VILLIERS et BERTHAULT. — « Recherches sur le lait. Détermination du mouillage. » (*Bulletin Soc. Chim., XIX, 315, 1898.*)
- WIEGNER (G.). — « Zur physikalischen Chemie des Chlorcalciumserums der Milch. » (*Nahr. u. Genuss., XX (2), 71, 86, 1910.*)
 « Über die Abhängigkeit der Zusammensetzung der Kulmilch vom Dispersitätsgrade ihrer Einzelbestandteile. » (*Zweiter Beitrag zur Kolloid-Chemie der Milch.*) — (*Nahr. u. Genuss., XXVII, 425, 438, 1914.*)
- WIEGNER (G.) et YAKUWA (G) — « Über das Brechungsvermögen und das spezifische Gewicht des Chlorcalciumserums der Milch. » (*Milchwirtsch. Ztbltt., V (11, 12), 1909.*)
- WITTMANN. — « Untersuchungen über die Refraktion des Milchserums (*Vorläufige Mitteilung*). » (*Oesterr. Molker Zeitg., 15 März, 1904.*)
- ZAHN. — « Untersuchungen über die Eiweisskörper der Milch. » (*Pflügers Archiv., II, 1869.*)
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	11
CHAPITRE PREMIER. — Historique de la réfractométrie des lacto-sérums	15
CHAPITRE II. — Causes des différences entre les indices de réfraction fournis, pour un même lait, par les diverses méthodes de préparation des lacto-sérums (Recherches personnelles)	34
Détermination de l'indice de réfraction absolu (N_0) du lacto-sérum ...	36
1° Filtration du lait sur collodion (Ultrafiltration).....	36
Technique de l'ultrafiltration	39
Propriétés du lacto-sérum d'ultrafiltration.....	41
2° Méthode graphique	43
CHAPITRE III. — Part revenant, dans l'indice de réfraction, à chacun des composants du lacto-sérum d'ultrafiltration (Recherches personnelles).....	47
Mode opératoire	48
Résultats expérimentaux de la synthèse des lacto-sérums	61
CHAPITRE IV. — Etablissement d'une classification des lacto-sérums. Etude critique de leur valeur pratique. Choix d'une méthode.....	63
A. <i>Lacto-sérums préparés à froid:</i>	
Sérum spontané.....	64
Sérum à l'asaprol	65
Sérum au sulfate de cuivre	65
Tétrasérum I	66
Sérum chloruromercurique	66
B. <i>Lacto-sérums préparés à chaud:</i>	
Sérum à l'acide acétique.....	67
Tétrasérum II	68
Sérum chlorurocalcique	69

	Pages
Choix d'une méthode	70
Influence des substances conservatrices ajoutées au lait sur l'indice de réfraction des sérums chlorurocalciques.....	71
CHAPITRE V. — Utilisation de la réfractométrie pour la recherche rapide du mouillage.....	72
APPENDICE — Réfractomètres	77
CONCLUSIONS	78
BIBLIOGRAPHIE	81
